

**Untersuchungen zur
radioimmunologischen Bestimmung
von Testosteron
im Plasma ohne Chromatographie**

Gabriele Doering

1974



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der I. Medizinischen Klinik der Universität München

Direktor: Professor Dr. H. Schwiegk

Untersuchungen zur radioimmunologischen Bestimmung von
Testosteron im Plasma ohne Chromatographie

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Gabriele Doering

aus

München

1974



Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität München

Berichterstatter: Priv.Doiz. Dr.med. L. Raith

Mitberichterstatter: Prof. Dr.med. H. Schwiegk

Tag der mündlichen Prüfung: 9. Juli 1974

Gliederung

	Seite
A. <u>Einleitung</u>	1 - 3
Fragestellung	3
B. <u>Methode</u>	4
I. Prinzip der Methode	4
II. Durchführung der Methode	5 - 6
III. Diskussion der Methode	
1. Zur Extraktion	7
2. Zur Steroid-Antikörper-Reaktion	
a) Inkubationsdauer mit Antikörper	7 - 8
b) Herstellung des Antikörpers	9 - 10
c) Spezifität des Antikörpers	10
d) Kapazität des Antikörpers	11 - 12
e) Konzentration der Antikörperlösung	13 - 14
3. Zur Trennung von freiem und Antikörper-gebundenem Hormon	15 - 19
4. Berechnung der Hormonmenge in Plasmaproben	19 - 20
5. Eichkurven	21 - 22
IV. Zuverlässigkeitskriterien	
1. Genauigkeit in der Serie	
a) der Eichwerte	23
b) der Plasmabestimmungen	24
2. Genauigkeit von Tag zu Tag	
a) der Eichwerte	24
b) der Plasmabestimmungen	24 - 25
3. Leerwert	
a) Wasser-Leerwert	26
b) Plasma-Leerwert	26

C. Ergebnisse

1. Plasmatestosteron gesunder Männer	27 - 28
2. Einfluß des Lebensalters auf das Plasmatestosteron	29
3. Tagesrhythmik des Plasmatestosterons	30 - 35
4. Plasmatestosteron orchiektomierter bzw. hypogonader Männer	36
5. Plasmatestosteron nach Stimulierung mit HCG	37
6. Plasmatestosteron gesunder Frauen	38
7. Plasmatestosteron bei Frauen mit Hirsutismus und anderen endokrinologischen Erkrankungen	38

D. Diskussion

39 - 52

E. Zusammenfassung

53 - 55

A. Einleitung

Die Bestimmung von Testosteron im Plasma ist mit verschiedenen Methoden möglich: Fluorometrische Messung nach enzymatischer Umwandlung von Testosteron zu Oestradiol und Oestron (23, 63), mit einer modifizierten Farbreaktion nach Koenig und Mitarbeitern (62), mit Isotopenverdünnungsmethode (29, 66) und mit Gaschromatographie (8, 42).

Bei Untersuchungen über die Bindung von Cortisol an das Plasmaprotein Transcortin beschrieben Slaunwhite und Sandberg (72), daß auch Testosteron in verdünntem Plasma um etwa 10 % stärker gebunden vorliegt als in einer entsprechend konzentrierten Albuminlösung und vermuteten daher auch für Testosteron neben der Bindung an Albumin eine zusätzliche Bindung an ein anderes Plasmaprotein. Über die Bindung von Testosteron an ein anderes Plasmaprotein als Albumin berichten auch Chen und Mitarbeiter (10).

Mercier et al. (52) charakterisierten dann dieses Protein als ein β -Globulin, Pearlman et al. (65) fanden später einen Anstieg dieses Testosteron-bindenden Globulins in der Schwangerschaft und während einer Oestrogen-therapie von Männern mit Prostata-Carcinom. Dieser Befund wurde später von verschiedenen Autoren bestätigt (3, 68, 71).

Vermeulen und Verdonck (77) fanden, daß die Kapazität des Testosteron-bindenden Globulins begrenzt ist, die Affinität zu Testosteron jedoch hoch. Untersuchungen zur Spezifität dieses Proteins ergaben, daß die 17- β -Hydroxylgruppe die für die Bindung an das Protein entscheidende funktionelle Gruppe ist und daher auch Dihydrotestosteron, Oestradiol und weitere C_{19} - bzw. C_{18} -17- β -OH-Steroide gebunden werden; Kato und Horton (40) fanden eine höhere Affinität dieses Globulins für Dihydrotestosteron und Androstendiol als für Testosteron.

Die Bindung an ein spezifisches Protein zur Bestimmung von Hormonen im Plasma wurde erstmals von Ekins (18) zur Bestimmung von Thyroxin im Plasma

angewandt, für Steroidhormone von Murphy et al. (55) als "kompetitive Proteinbindungsmethode" zur Bestimmung von Corticoiden im Plasma und später dann von verschiedenen Arbeitsgruppen für Testosteron im Plasma entwickelt (26, 33, 51).

Die Grundlagen der Steroidbestimmung mit der kompetitiven Proteinbindungsmethode sind im folgenden kurz dargestellt:

1. Extraktion des Hormons aus dem Plasma
2. Zugabe von radioaktiv markiertem Hormon zu dem proteinhaltigen, verdünnten Serum, dabei erfolgt die Bindung des markierten Hormons an das spezifisch bindende Protein
3. Zugabe des nicht markierten Hormons, das dann das radioaktiv markierte Hormon proportional zur zugegebenen Menge aus der Proteinbindung verdrängt
4. Trennung des freien vom proteingebundenen Hormon
5. Messung der Radioaktivität
6. Berechnung der Menge des nicht markierten Hormons anhand einer mit bekannten Mengen stummen Hormons erstellten Verdrängungskurve

Die Spezifität des bei der kompetitiven Proteinbindungsmethode zur Bestimmung von Testosteron im Plasma verwendeten Sexualhormon-bindenden Globulins ist nicht sehr groß. Das Globulin bindet auch Dihydrotestosteron, Androstendiol und andere Steroide mit einer 17- β -OH-Gruppe.

Ein spezifischer Antikörper gegen ein einzelnes, nach Kopplung an ein Protein als Antigen wirkendes Steroidhormon, der an die Stelle des Plasmaproteins tritt, erhöht die Spezifität und auch die Empfindlichkeit der Bestimmungsmethode. Bei dem aus der kompetitiven Proteinbindungsmethode entwickelten Radioimmunoassay wird das im Plasma vorliegende Sexualhormon-bindende Globulin durch einen Antikörper ersetzt. Die Bestimmung von Testosteron im Plasma mit Radioimmunoassay ist von verschiedenen Autoren beschrieben worden (12, 16, 28, 37, 53). Trotz der Erhöhung der Spezi-

fität und der Empfindlichkeit ist es aber nicht gelungen, einen genügend spezifischen Antikörper zu entwickeln, der weitere Reinigungsschritte des Plasmaextraktes unnötig macht.

Fragestellung

Ziel dieser Arbeit ist, zu untersuchen, ob mit einer radioimmunologischen Methode Testosteron im Plasma ohne chromatographische Reinigung des Plasmaextraktes bestimmt werden kann.

Die Methode sollte geprüft werden auf:

1. Anwendbarkeit zur Bestimmung des Plasmatestosteronspiegels gesunder Männer,

außerdem sollte geprüft werden:

2. der Einfluß des Lebensalters auf die Plasmatestosteronkonzentration bei Männern,
3. das Vorhandensein einer Tagesrhythmik der Plasmatestosteronkonzentration,
4. die Anwendbarkeit zur Abklärung von Hodenfunktionsstörungen, insbesondere des Hypogonadismus,
5. die Anwendbarkeit zur Bestimmung des Plasmatestosterons bei Frauen.

B. Methode

Materialien:

Testosteron: Fa. Schering AG, Berlin

Radioaktiv markiertes Testosteron: Fa. NEN, Boston, 250 uCi/4 ml Äthanol

Testosteron-Antikörper: Fa. Wien-Laboratories, USA

Amberlite-Streifen: Fa. Mallinckrodt, Frankfurt/M.

Rinderserumalbumin 30 %: Fa. Dade, Miami, USA

PPO, Dimethyl-POPOP: Fa. Packard, USA

Na-Acetat, Na-Barbiturat, Äthanol, Äthylenglykol, Dioxan,

Methanol, Naphthalin: alle p.A. der Fa. Merck, Darmstadt

1. Prinzip der Methode

Die Bestimmung von Testosteron im Plasma mit Testosteron-Antikörper beruht auf folgendem Prinzip:

1. Extraktion des Hormons aus dem Plasma
2. Zugabe von radioaktiv markiertem Hormon und Antikörperlösung in Pufferlösung: Bildung des Steroid-Antikörper-Komplexes
3. Trennung des freien vom Antikörper-gebundenen Hormon: Adsorption an Amberlite
4. Messung der gebundenen Radioaktivität
5. Berechnung der Menge des stummen Hormons

Die Berechnung der Hormonmenge in Plasmaextrakten erfolgt durch Vergleich der gemessenen Impulse pro Minute mit den Impulsen pro Minute der Standardlösungen der Eichkurve.

II. Durchführung der Methode

1. Extraktion des Hormons aus dem Plasma:

Das im Plasma an Albumin und Sexualhormon-bindendes Globulin gebundene Testosteron wird durch Äthanol aus der Eiweißbindung freigesetzt.

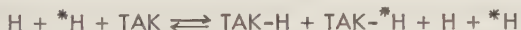
0,25 ml Serum wird mit 1 ml Äthanol gemischt, zwei Minuten bei 3000 UpM zentrifugiert, 0,5 ml des Überstandes ohne weitere Reinigung in ein Glasinkubationsgefäß abpipettiert und zur Trockenheit abgedampft. (0,5 ml des Überstandes entsprechen 0,1 ml Serum)

2. Zugabe von radioaktiv markiertem Hormon und Antikörperlösung in Pufferlösung:

Die Zugabe von radioaktiv markiertem Hormon und der Antikörperlösung erfolgt gleichzeitig mit einer Repetierspritze. 30 μ l des ^3H -Testosterons in 100 ml Barbitol-Acetat-Puffer, pH 7,4 und 0,1 ml Antikörperlösung werden zu jedem Inkubationsgefäß gegeben und eine Stunde bei Zimmertemperatur inkubiert.

3. Steroid-Antikörper-Reaktion:

Das nach dem Abdampfen der wässrig-alkoholischen Phase in den Inkubationsgefäßen verbliebene Steroid wird bei der Zugabe von Pufferlösung, tritiiertem Steroid und Antikörper wieder gelöst. Diese Lösung erfolgt innerhalb der Vorinkubation, in der sich auch die Bindung des markierten und unmarkierten Hormons an den Antikörper vollzieht:



TAK = Testosteron-Antikörper

H = stummes Hormon

$^*\text{H}$ = radioaktiv markiertes Hormon

Stummes und radioaktiv markiertes Hormon werden in gleicher Weise an den Antikörper gebunden. Die Bindung ist abhängig von der Spezifität des Antikörpers und der Kapazität der zugegebenen Antikörpermenge.

Das Konzentrationsverhältnis von Antikörper-Hormon-Komplex mit stummem und markiertem Hormon ist abhängig von der Konzentration des vorhandenen stummen und zugegebenen markierten Hormons und ist als Gleichgewichtsreaktion aufzufassen.

4. Trennung des freien vom Antikörper-gebundenen Hormon:

Die Trennung des freien vom Antikörper-gebundenen Hormon wird durch Adsorption an Amberlite-beschichtete Kunststoffstreifen, $4,8 \times 0,6$ cm, erreicht. Die Inkubation mit Amberlite betrug eine Stunde bei Zimmertemperatur auf einem 45° geneigten Rotor.

5. Messung der gebundenen Radioaktivität:

Die in der Lösung verbliebene, gebundene Radioaktivität wurde in einem Packard-Scintillationszähler gemessen. 1 ml der Lösung wurde in ein Packardgläschen pipettiert, 15 ml Scintillationslösung zugegeben und jede Probe 10 min gezählt.

6. Berechnung der Menge des stummen Hormons:

Die Berechnung des stummen Hormons erfolgte durch Vergleichen der Impulse pro Minute der Standardlösungen mit bekannter Hormonmenge nach Erstellen einer Eichkurve. Außerdem bestand die Möglichkeit zur Berechnung des stummen Hormons ohne Erstellen einer Eichkurve im Rahmen eines Computer-Programms zur Auswertung von Radioimmunoassays für Steroidhormone.

III. Diskussion der Methode

1. Zur Extraktion:

Die Zugabe von Äthanol zu Plasma bewirkt eine Denaturierung der Serumproteine, keine eigentliche Extraktion. Testosteron ist im Plasma sowohl unspezifisch an Albumin als auch spezifisch an das Sexualhormon-bindende Globulin gebunden und wird bei der Denaturierung der Proteine aus dieser Bindung freigesetzt. Nach dem Zentrifugieren befindet sich das gesamte Plasmatestosteron im Überstand. Da ein Teil dieses wässrig-alkoholischen Überstandes ohne weitere Vorreinigung zum Abdampfen in ein Inkubationsgefäß gegeben wird und bis zur Durchführung des Assays kein weiterer Verlust des Hormons eintritt, kann auf Zugabe eines markierten Hormons zur Bestimmung der Wiederfindung verzichtet werden.

2. Zur Steroid-Antikörper-Reaktion:

a) Inkubationsdauer mit Antikörper

Bei Zugabe von radioaktiv markiertem Hormon und Antikörper in Pufferlösung zu dem im Inkubationsgefäß nach Abdampfen der wässrig-alkoholischen Lösung (Plasmaextrakt oder Standardlösung) verbliebenen Hormon wird dieses gelöst und konkurriert mit dem markierten Hormon um die Bindung an den Antikörper. Die Abhängigkeit dieser Reaktion von der Zeit zeigt folgender Versuch:

0,0, 0,4, 0,8 und 1,2 ng Testosteron-Standardlösung wurden jeweils im Doppelansatz in Inkubationsgefäßen abgedampft, markiertes Hormon und Antikörper in Pufferlösung zugegeben. Die Vorinkubationsdauer betrug 30, 60, 120 und 180 min, die Inkubation mit Amberlite immer 60 min.

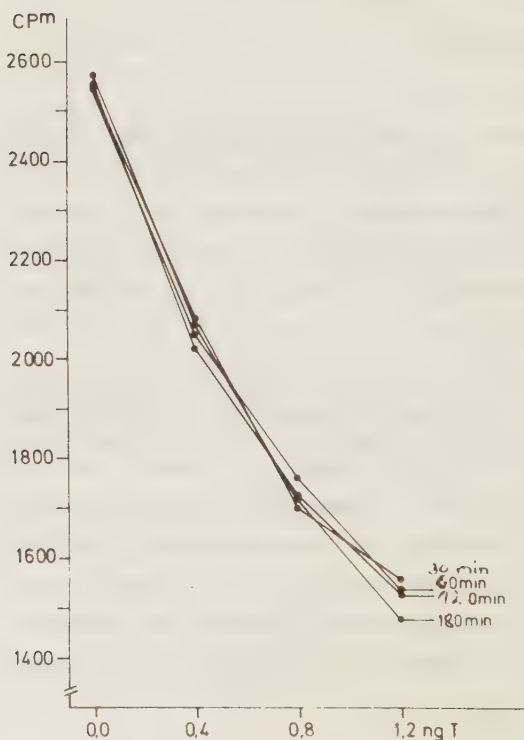
Die Abbildung zeigt, daß bei Verlängerung der Vorinkubationszeit von 30 bis 180 min kein wesentlicher Impulsunterschied auftritt. Die Reaktion des stummen und markierten Hormons mit dem Antikörper erfolgt innerhalb der ersten 30 min, eine genaue Einhaltung der Vorinkubationszeit ist daher nicht erforderlich. Die schnelle Gleichgewichtsein-

stellung wird auch für die Reaktion von Plasmaprotein mit dem entsprechenden Bindungspartner berichtet (57).

Abb.1: Abhängigkeit der Steroid-Antikörper-Reaktion von der Vorinkubationszeit

min	cpm ($\bar{x}$)			
	0.0 ng	0.4 ng	0.8 ng	1.2 ng
30	2543	2048	1762	1539
60	2553	2020	1726	1529
120	2572	2068	1719	1479
180	2545	2082	1700	1557

zugeetzte Impulse: 3300 IpM



b) Herstellung des Antikörpers

Während bei der Proteinbindungsmethode das zu messende Steroid mit dem natürlich vorkommenden Protein reagiert, findet beim Radioimmunoassay eine Reaktion mit einem Antikörper statt, der durch aktive Immunisierung mit zu messendem Steroid gewonnen wird. Steroide in unveränderter Form sind nicht als Antigene wirksam, nach Kopplung an ein Protein wirken sie jedoch als Hapten. Da die direkte Kopplung an ein Protein über die Hydroxyl- oder Ketogruppe der Steroide keine genügend feste, kovalente Bindung ergibt, werden Steroidderivate gebildet, die dann eine Peptidbindung an Albumin ermöglichen (1).

Bei der Veresterung der Hydroxylgruppe entstehen Steroid-Succinate, bei der Reaktion der Ketogruppe mit o-carboxy-methyl-hydroxylamin Oxime, wie von Erlanger et al. (19) beschrieben und dann auch für Testosteron angewandt wurde (28). Dabei wird bei der Immunisierung mit Testosteron-3-oxim-Albumin ein höherer Antikörpertiter, höhere Affinität und größere Spezifität erreicht als bei Immunisierung mit Testosteron-17-Monosuccinat-Albumin (Tillson, zit. nach 1, 60a, 28). Der Antikörper hat eine größere Spezifität als das Sexualhormon-bindende-Globulin, das mit anderen 17- β -OH-Steroiden reagiert und auch eine höhere Affinitätskonstante: Vermeulen et al. (77) geben die Affinitätskonstante für SHBG mit $4 - 16 \times 10^8$ an, während die Angaben über Affinitätskonstante des Antikörpers bei Immunisierung mit Testosteron-3-oxim-Albumin bei 10^9 liegen (16).

Der in diesen Versuchen verwendete Antikörper wurde nach der von Chen et al. (12) modifizierten Methode nach Liebermann et al. (46) hergestellt. Testosteron-3-oxim-Albumin wird durch Kopplung an Rinderserumalbumin hergestellt, 10 mg Testosteron-3-oxim-BSA in 10 ml physiologischer Kochsalzlösung gelöst, mit dem gleichen Volumen Freund's Adjuvans versetzt und mit 2 ml dieser Lösung (entspricht 1 mg T-3-oxim-BSA) werden junge, weibliche Kaninchen immunisiert. Die Injektionen erfolgen anfangs 3mal im Abstand von 10 Tagen, dann mit der halben Dosis einmal wöchentlich für vier Wochen und länger.

Zur Spezifität des Antikörpers geben Chen und Mitarbeiter (12) eine starke Kreuzreaktion mit Dihydrotestosteron von 81.7 % an, Dihydrotestosteron wird deshalb ohne eine vorherige chromatographische Trennung mitbestimmt. Auch andere Autoren (16, 28, 37) geben eine ähnlich ausgeprägte Kreuzreaktion für Dihydrotestosteron an. Weitere 17- β -ol-C₁₉-Steroide, die ebenfalls Kreuzreaktionen mit Testosteron zeigen, sind bisher nicht in höheren Konzentrationen im Plasma nachgewiesen. Im Hinblick auf die klinische Fragestellung bei der Bestimmung von Testosteron im Plasma, die bei Männern meist eine Aussage über einen zu niedrigen, bei Frauen über einen zu hohen Plasmatestosteronspiegel verlangt, wird die gleichzeitige Bestimmung von Dihydrotestosteron nicht entscheidend sein, da die Plasmakonzentration von Dihydrotestosteron bei Männern etwa 10 %, bei Frauen etwa 30 % der Plasmatestosteronkonzentration beträgt (38) und andererseits Dihydrotestosteron als androgen wirksames Hormon in enger funktioneller Beziehung zu Testosteron steht (83).

c) Spezifität des Antikörpers

Die Spezifität des Antikörpers, wie sie von Wien-Laboratories angegeben wird, zeigt die folgende Aufstellung:

Zugesetzte Menge	Steroid	T. equiv.
1000 pg	5- α -Dihydrotestosteron	545 pg
1000 pg	delta-1-Testosteron	425 pg
1000 pg	5- α -Adrostan-3- α , 17- β -diol	< 50 pg
1000 pg	delta-5-Androsten-3 β , 17 β -diol	< 50 pg
1000 pg	Epitestosteron	< 50 pg
1000 pg	Aldosteron	< 50 pg
100 ng	Hydrocortison	< 50 pg
50 ng	Progesteron	< 50 pg
10 ng	Östradiol	< 50 pg
10 ng	Dehydroepiandrosteron	< 50 pg

d) Kapazität des Antikörpers

Zur Kapazität des Antikörpers wurde folgender Versuch durchgeführt:

0, 10, 20, 50, 100 und 200 μ l Testosteron-Antikörper wurden einer konstanten Menge 3-H-Testosteron in Barbitol-Acetat-Pufferlösung mit 0.06 % BSA zugesetzt. Die Vorinkubation betrug 2 Stunden, die Inkubation mit Amberlite 60 min bei Zimmertemperatur auf dem Rotor.

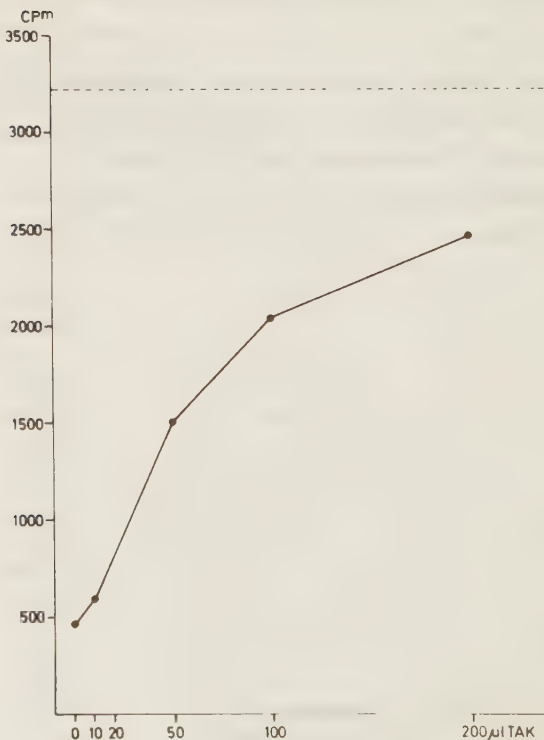
4000 lpM der 3 H-Testosteronlösung entsprechen etwa 80 pg Testosteron, im Versuch wurden 3200 lpM zugesetzt, die etwa 64 pg Testosteron entsprechen.

Bei Zugabe von 0 μ l Antikörperlösung bleiben nach der Adsorption an Amberlite 445 lpM bzw. 13.8 % der zugesetzten Impulse in Lösung, die bei der Berechnung der Antikörper-gebundenen Testosteronmenge bei den verschiedenen Antikörperkonzentrationen subtrahiert werden.

Die folgende Abbildung zeigt die bei der jeweiligen Antikörperkonzentration gebundene Testosteronmenge. Die bei Zugabe von 0.1 ml Antikörperlösung gebundene Testosteronmenge von 32 pg stimmt mit der von der Herstellerfirma angegebenen Menge von 35 pg bei 0.1 ml Antikörperlösung gut überein.

Abb. 2: Kapazität des Antikörpers

	cpm ($\bar{x}$)	%	pg
0.0 ml Antikörperlösung (ohne Plättchenadsorption)	3218	100	
0.0 ml Antikörperlösung (mit Plättchenadsorption)	445	13.8	0
0.01 ml Antikörperlösung	590	18.3	3
0.02 ml Antikörperlösung	637	19.8	4
0.05 ml Antikörperlösung	1500	46.6	21
0.1 ml Antikörperlösung	2043	63.4	32
0.2 ml Antikörperlösung	2465	76.8	40



e) Konzentration der Antikörperlösung

Um die günstigste Antikörperkonzentration für den Meßbereich zu ermitteln, wurde folgender Versuch durchgeführt:

Standardlösungen von 0.0, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2.0 und 4.0 ng Testosteron wurden in achtfachem Ansatz in Inkubationsgefäßen abgedampft. Allen Gefäßen wurden 3 ml Pufferlösung und 3H-Testosteron (ca. 3200 IpM) zugesetzt. Antikörperlösung wurde 0.05, 0.1 und 0.2 ml zugegeben.

Einer Serie wurde kein Antikörper zugesetzt.

Die Abbildung zeigt den Impulsabfall über den Meßbereich bei den verschiedenen Antikörperkonzentrationen. Der Impulsabfall über den Meßbereich von 0 bis 4 ng beträgt bei Zugabe von 0.05 ml Antikörperlösung 1044 IpM, bei Zugabe von 0.1 ml 1456 IpM, bei Zugabe von 0.2 ml 1442 IpM, ohne Antikörperzusatz zeigt sich über den gesamten Meßbereich kein Impulsabfall.

Die nächste Abbildung zeigt den prozentualen Abfall der Impulse über den Meßbereich bei den verschiedenen Antikörperkonzentrationen. Ohne Antikörperzusatz bleibt der prozentuale Abfall vom Nullwert über den ganzen Meßbereich bei 87 %, bei 0.05 ml besteht über den Meßbereich ein Impulsabfall von 77 %, bei 0.1 ml von 69 % und bei 0.2 ml Antikörperlösung von 59 %.

Bei Zugabe von 0.05 ml Antikörperlösung liegt der größte prozentuale Impulsabfall im unteren Meßbereich (zwischen 0.0 und 0.4 ng), bei Zugabe von 0.2 ml im oberen Meßbereich (zwischen 2.0 und 4.0 ng), während die Zugabe von 0.1 ml einen relativ gleichmäßigen Impulsabfall über den Bereich von 0.2 und 2.0 ng ergibt und daher zur Bestimmung der Testosteronkonzentration im Plasma am besten geeignet schien.

Abb. 3: Impulsabfall über den Meßbereich bei Zugabe von verschiedenen Antikörperkonzentrationen

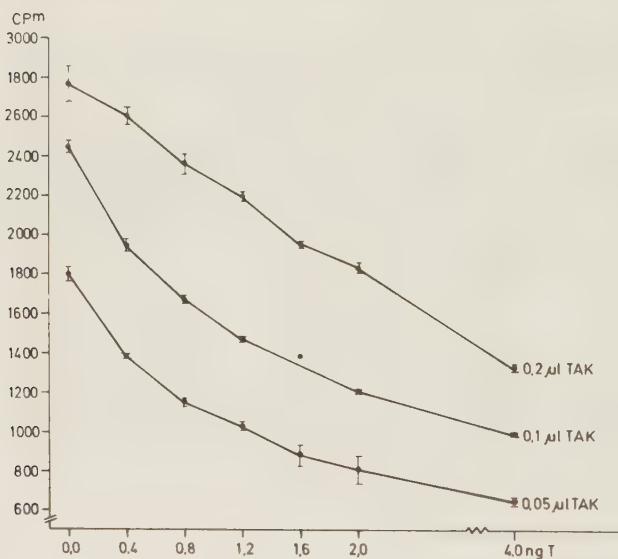
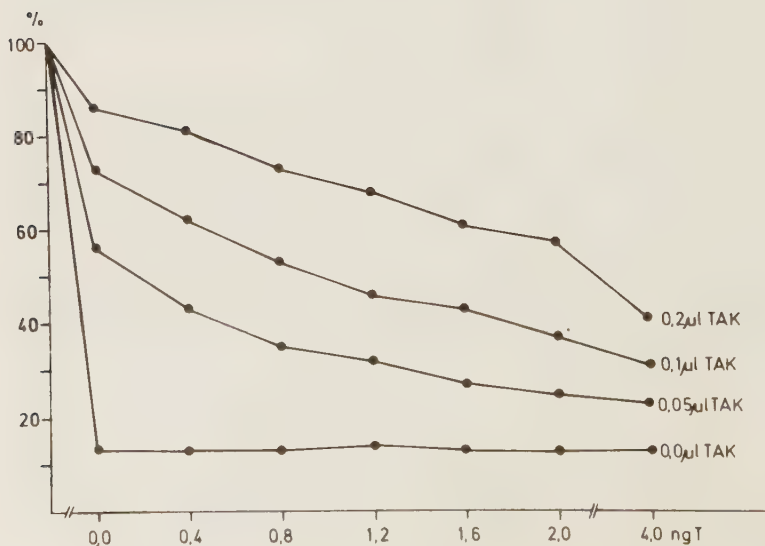


Abb. 4: Prozentualer Impulsabfall über den Meßbereich bei Zugabe von verschiedenen Antikörperkonzentrationen



3. Zur Trennung von freiem und Antikörper-gebundenem Hormon

Bei Anwendung der kompetitiven Proteinbindungsmethode und beim Radioimmunoassay ist die Trennung des an das spezifische Protein oder an den Antikörper gebundenen Hormons von dem freien Hormon Voraussetzung.

Die Forderungen, die an die Trennmethode gestellt werden, sind die möglichst vollständige und selektive Trennung der beiden Hormonfraktionen, möglichst geringe Beeinflußbarkeit durch Inkubationszeit und Arbeitstemperatur und einfache Durchführbarkeit.

In der Literatur sind folgende Methoden zur Trennung von freiem und gebundenem Hormon angegeben:

1. Trennung durch Florisil (38)
2. Trennung durch Sephadex (39)
3. Trennung durch Dialyse (55)
4. Trennung durch Gel-Filtration (56)
5. Trennung mit Ammoniumsulfatlösung (28, 37, 49, 51)
6. Trennung mit Fuller's Erde und Lloyd's Reagenz (56a)
7. Trennung mit dextranbeschichteter Aktivkohle (16, 70)
8. Trennung mit Anti-Kaninchen- γ -Globulin, Doppelantikörpermethode (12, 35)

Alle diese Methoden sind zur Trennung des freien vom gebundenen Hormon anwendbar und in ihrer Zuverlässigkeit vergleichbar, wenn auch einzelne Methoden für eine Gruppe von Hormonen, wie z.B. Steroide, günstiger erscheinen, als zur Trennung von Proteohormonen. Jedoch muß zumindest bei einigen Verfahren auf die genaue Einhaltung einer konstanten Reaktionszeit oder Arbeitstemperatur geachtet werden, andere sind in der technischen Durchführung nicht einfach.

Wiedemann et al. (82) untersuchten die Anwendung von mit Amberlite IRA 400 beschichteten Kunststoffstreifen, wie sie auch bei der Bestim-

mung von Thyroxin im Serum mit der kompetitiven Proteinbindungsmethode angewandt werden, zur Trennung von freiem und gebundenem Steroid bei der Bestimmung von Testosteron im Plasma mit der Proteinbindungsmethode.

In dieser Arbeit wurde gezeigt, daß die Amberlitestreifen nach einer Inkubationsdauer von 60 min etwa 90 % der zugesetzten Radioaktivität aus einer wässrigen Lösung adsorbiert hatten. In Versuchen mit verschiedenen Konzentrationen von Schwangerenserum zeigten sie weiterhin, daß eine Trennung von freiem oder unspezifisch an Albumin gebundenem Hormon von dem an sexualhormonbindendes Globulin gebundenem Hormon möglich ist. Auch bei der Anwendung des Testosteron-Antikörpers zeigte sich, daß ohne Antikörperzusatz etwa 90 % der zugesetzten Radioaktivität an Amberlite adsorbiert werden und mit steigender Antikörperkonzentration, d.h. mit steigendem Anteil des gebundenen Hormons weniger freie Radioaktivität an Amberlite adsorbiert werden. Weiterhin konnte eine relative Temperaturunabhängigkeit bei der Inkubation mit Amberlite gezeigt werden, ebenso die geringen Impulsunterschiede bei verschieden langer Inkubationsdauer. Beide Tatsachen treffen auch für die Anwendung bei der Antikörpermethode zu.

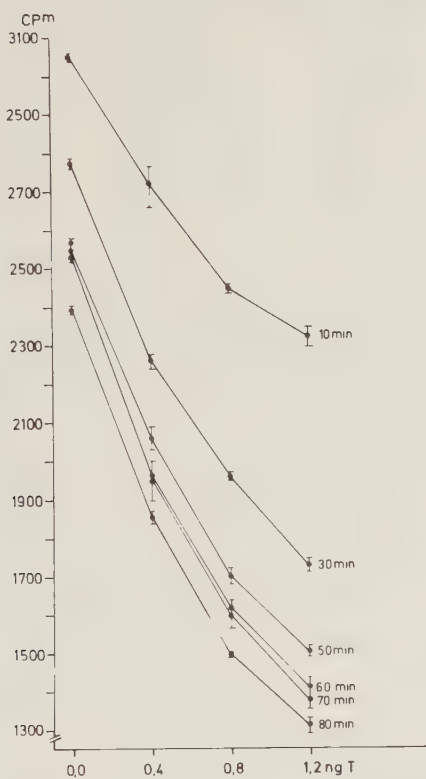
Den Einfluß der Inkubationsdauer mit Amberlite auf die Adsorption zeigt der folgende Versuch:

0.0, 0.4, 0.8 und 1.2 ng Testosteron-Standardlösung wurden in Inkubationsgefäßen im Doppelansatz abgedampft, Pufferlösung, ^3H -Testosteron und Antikörper zugegeben und eine Stunde auf dem Rotor bei Zimmertemperatur vorinkubiert.

Die Amberlitestreifen wurden zugegeben und jeweils in getrennten Ansätzen 10, 30, 50, 60, 70 und 80 min bei Zimmertemperatur auf dem Rotor inkubiert.

Die Abbildung zeigt den Kurvenverlauf bei verschiedenen Inkubationszeiten.

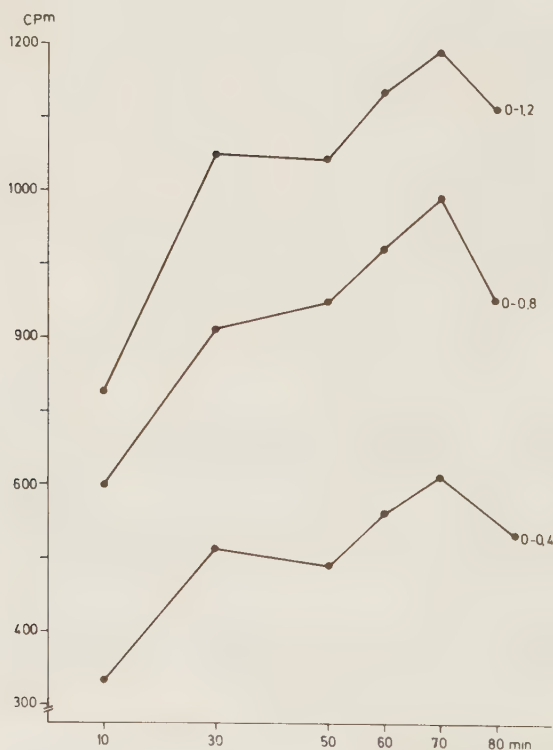
Abb. 5: Einfluß der Inkubationszeit auf die Adsorption an Amberlite



Die nächste Abbildung zeigt die Impulsdifferenzen über die Bereiche von 0.0 bis 0.4, 0.0 bis 0.8 und 0.0 bis 1.2 ng bei der jeweiligen Inkubationsdauer.

min.	Impulsdifferenz		
	0.0 - 0.4	0.0 - 0.8	0.0 - 1.2 ng
10	333	598	726
30	515	811	1047
50	487	847	1043
60	563	922	1134
70	613	991	1190
80	532	852	1083

Abb. 6:



Die maximalen Impulsdifferenzen lagen bei 70 min. Zwischen 60 und 70 min bestanden jedoch keine wesentlichen Impulsdifferenzen, die Abnahme der Impulsdifferenzen bei 80 min zeigt, daß eine weitere Verlän-

gerung der Inkubationsdauer keine weitere Zunahme der Impulsdifferenzen bewirkt. Der insgesamt geringe Unterschied in den Impulsdifferenzen zwischen 60 und 80 min zeigt aber auch, daß eine genaue Einhaltung der Inkubationszeit nicht notwendig ist.

4. Berechnung der Hormonmenge in Plasmaproben

Die Berechnung der unbekannten Testosteronkonzentration in Plasmaproben erfolgte durch Ablesen von der Eichkurve, die bei jedem Versuch erstellt wurde.

Zum Aufstellen der Eichkurven wurden die Standardlösungen mit bekannten Testosteronmengen (0.0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 und 1.5 ng/0.5 ml) in einem Äthanol/Wasser-Gemisch im Verhältnis 4 : 1 in Glasinkubationsgefäßen abgedampft und im weiteren Verlauf wie die Serumextrakte behandelt. Bei der Extraktion der Serumproben wurde mit Zugabe von 1 ml Äthanol zu 0.25 ml Serum ebenfalls das Verhältnis Äthanol/wässrige Lösung von 4 : 1 erreicht. Die zur Durchführung des Versuches eingesetzte Extraktmenge von 0.5 ml entspricht einer Serummenge von 0.1 ml.

Durch Ablesen der Impulse pro Minute auf der Eichkurve ergab sich dann die Testosteronmenge pro 0.1 ml Serum.

Durch Transformation der Eichkurve in eine Gerade nach der Formel

$$Q = \frac{IpM \text{ 0 ng}}{IpM \times \text{ng}} \quad (\text{s. Abbildung})$$

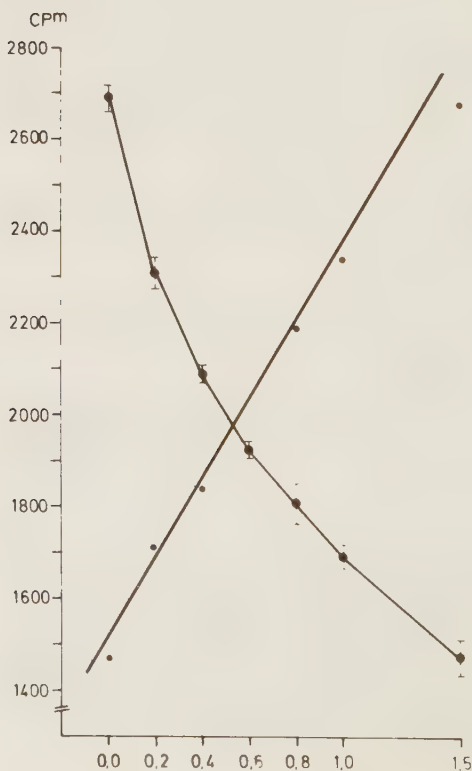
konnte die Hormonmenge in Serumproben ebenfalls bestimmt werden. Es ergaben sich nur geringe Unterschiede zu den auf der Eichkurve abgelesenen Werten.

Weiterhin konnte die Berechnung mit einem Computerprogramm zur Auswertung von Radioimmunoassays von Steroidhormonen im Klinisch-chemischen Institut des Städtischen Krankenhauses München-Harlaching durchgeführt werden. Bei der Auswertung von drei Versuchen betrug bei logit-Regression der Regressionskoeffizient im Durchschnitt 0.988.

Abb. 7: Transformation der Eichkurve in eine Gerade

$$Q = \frac{\text{cpm } 0 \text{ ng}}{\text{cpm } x \text{ ng}}$$

	$\bar{x}$	Q
0.0 ng T/0.5 ml (ohne Plättchenadsorption)	3965	
0.0 ng T/0.5 ml	2689	1.47
0.2 "	2307	1.71
0.4 "	2089	1.89
0.6 "	1925	2.05
0.8 "	1809	2.19
1.0 "	1693	2.34
1.5 "	1475	2.68



5. Eichkurven

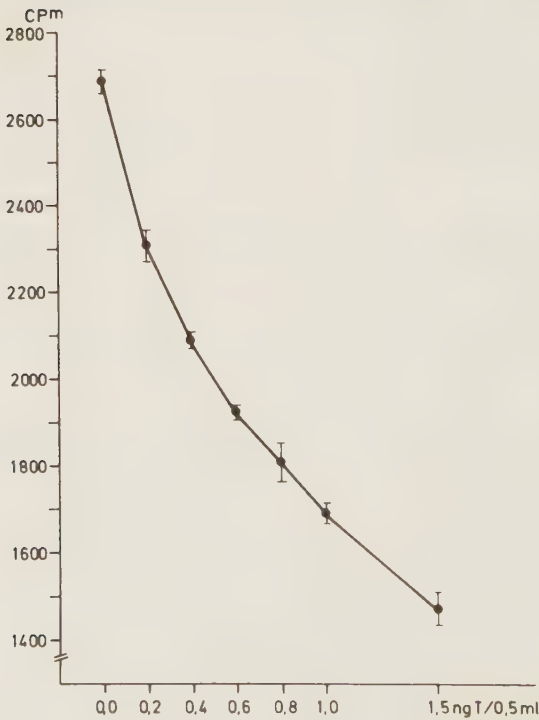
Nach der oben beschriebenen Methode wurde die Eichkurve zur Bestimmung des Plasmatestosterons erstellt. Die Standardlösungen enthielten 0.0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 und 1.5 ng Testosteron pro 0.5 ml. Alle Standardwerte und Plasmaproben wurden im Doppelansatz bestimmt.

Die Abbildung zeigt den Verlauf einer Eichkurve über den Bereich von 0.0 bis 1.5 ng Testosteron. Die eingezeichneten Werte entsprechen den Mittelwerten aus den angegebenen Doppelbestimmungen.

Der Impulsabfall über den Meßbereich beträgt 1204 IpM, zugesetzt wurden 3965 IpM. Der prozentuale Abfall der Impulse über die Eichkurve beträgt 63 %.

Abb. 8: Eichwerte und Eichkurve im Bereich von 0.0 bis 1.5 ng

	x_1	x_2	$\bar{x}$	cpm %
0.0 ng T/0.5 ml (ohne Plättchenadsorption)	3933	3997	3965	100 %
0.0 ng T/0.5 ml	2661	2718	2689	67.9 %
0.2 "	2271	2344	2307	58.1 %
0.4 "	2107	2072	2089	52.6 %
0.6 "	1910	1941	1925	48.5 %
0.8 "	1854	1764	1809	45.6 %
1.0 "	1669	1718	1693	42.6 %
1.5 "	1514	1436	1475	37.2 %



IV. Zuverlässigkeitskriterien

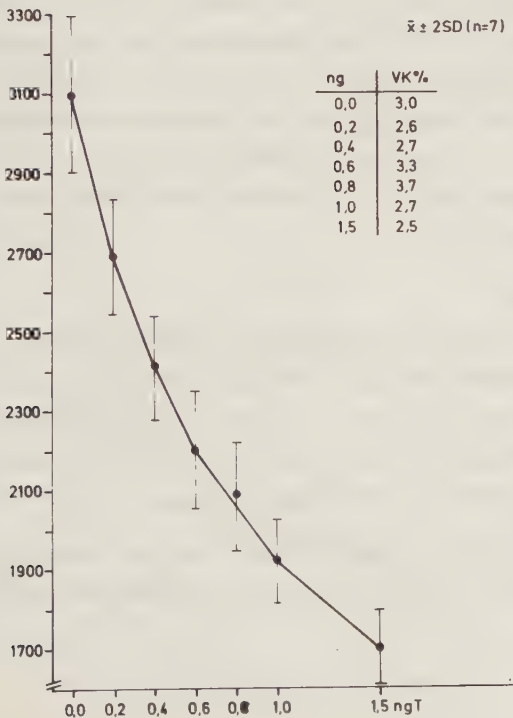
1. Genauigkeit in der Serie

a) der Eichwerte

Zur Ermittlung der Genauigkeit innerhalb der Serie wurden in einem Versuch sieben Eichkurven erstellt. Die in der Abbildung eingezeichneten Werte stellen die Mittelwerte aus den sieben Bestimmungen dar, die oberen und unteren Grenzen den Bereich der doppelten Standardabweichung ($\bar{x} \pm 2 \text{ SD}$).

Die Variationskoeffizienten für die einzelnen Werte sind angegeben, sie lagen zwischen 2.5 und 3.7 %, der maximale Variationskoeffizient lag mit 3.7 % bei 0.8 ng Testosteron.

Abb. 9: Genauigkeit in der Serie: $\bar{x} \pm 2 \text{ SD}$ (n=7)



b) der Plasmabestimmungen

Die Reproduzierbarkeit der Werte bei Plasmabestimmungen wurde in mehreren Plasma-Zehnfachbestimmungen geprüft. Es ergaben sich bei vier verschiedenen Seren im unteren, mittleren und oberen Meßbereich Mittelwerte von $96.0 \text{ ng\%} \pm 14.6 \text{ SD}$, $523.5 \text{ ng\%} \pm 52.4 \text{ SD}$, $883.5 \text{ ng\%} \pm 82.3 \text{ SD}$ und $895.5 \text{ ng\%} \pm 40.1 \text{ SD}$.

Die jeweiligen Variationskoeffizienten betrugen 15.2, 10.0, 9.3 und 4.4 %.

2. Genauigkeit von Tag zu Tag

a) der Eichwerte

Eichkurven, die an verschiedenen Tagen in getrennten Versuchen jeweils im Doppelansatz erstellt wurden, zeigten gute Übereinstimmung. Die folgende Abbildung zeigt sieben Eichkurven an verschiedenen Tagen erstellt, der Impulsabfall über den Meßbereich wurde in Prozent der zugesetzten Radioaktivität angegeben, da die Anzahl der zugesetzten Impulse nicht genau gleich war. Der prozentuale Abfall der Radioaktivität über den Meßbereich von 0.0 bis $1.5 \text{ ng\%}$ Testosteron betrug für die einzelnen Kurven 63, 62, 61, 63, 62, 64 und 66 % und zeigt damit nur geringfügige Schwankungen. Bei genau gleicher Zugabe von Radioaktivität und Antikörper in Versuchen an verschiedenen Tagen könnte auf die Erstellung einer jeweils neuen Eichkurve verzichtet werden.

b) der Plasmabestimmungen

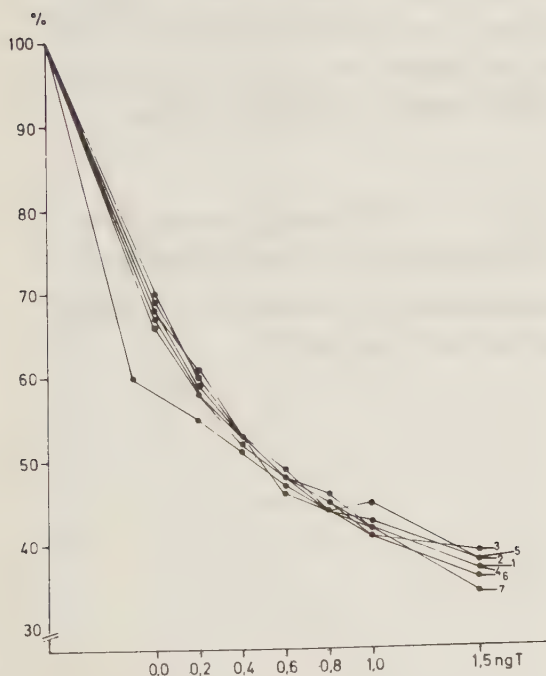
Die Genauigkeit in der Serie der gemessenen Plasmawerte wurde durch wiederholte Untersuchungen des gleichen Plasmas in getrennten Versuchsansätzen an verschiedenen Tagen überprüft. Das hierzu verwendete Nativblut wurde zentrifugiert, das überstehende Serum in 0.25 ml -Portionen eingefroren und unmittelbar vor Versuchsbeginn aufgetaut.

Es ergab sich bei neun Bestimmungen im Doppelansatz ein Durchschnittswert von $886.1 \text{ ng\%} \pm 54.5 \text{ SD}$, der Variationskoeffizient betrug 6.2 %.

Bei drei Doppelbestimmungen eines anderen Plasmas an verschiedenen Tagen ergab sich ein Mittelwert von $721.6 \text{ ng\%} \pm 20.2 \text{ SD}$, der Variationskoeffizient betrug 2.8 %.

Abb. 10: Eichkurven an verschiedenen Tagen im Prozent der zugesetzten Radioaktivität (n=7)

ngT	I	II	III	IV	V	VI	VII
0.0	67	66	70	68	68	60	69
0.2	58	58	60	59	61	55	60
0.4	52	53	53	53	53	51	53
0.6	48	48	48	48	49	47	46
0.8	45	44	45	46	44	44	44
1.0	42	43	41	42	45	41	42
1.5	37	38	39	37	38	36	34



3. Leerwert

a) Wasser-Leerwert

Im Zehnfachversuch wurden 0.25 ml Wasser in gleicher Weise wie Serum mit 1.0 ml Äthanol gemischt, zentrifugiert, 0.5 ml des Überstandes in Inkubationsgefäßen abgedampft und im weiteren Versuchsablauf wie Serum behandelt.

Nach Erstellen der Eichkurve ergaben sich für den Wasserwert als Mittelwert aus dem Zehnfachansatz bei zwei Versuchen $+ 34 \text{ ng\%} \pm 29.1 \text{ SD}$ bzw. $- 33 \text{ ng\%} \pm 33.4 \text{ SD}$ mit jeweils höchstem und niedrigstem Wert im ersten Versuch von $+ 80$ und $+ 5$, im zweiten Versuch von $+ 30$ und $- 100$. Die Variationskoeffizienten betrugen 83 und 93 %.

In getrennten Versuchsansätzen wurden die für Wasser auf der Eichkurve abgelesenen Werte über mehrere Tage verglichen. Es ergaben sich bei insgesamt 21 Bestimmungen Schwankungen um den Nullwert, die im negativen Bereich im Mittel $39.5 \text{ ng\%} \pm 31 \text{ SD}$, im positiven Bereich im Mittel $40.0 \pm 26 \text{ SD}$ betrugen. Zehn Werte lagen im negativen, elf im positiven Bereich. Dieser nicht konstante Wasser-Leerwert ist von den für die Serumproben ermittelten Werten nicht subtrahiert worden.

b) Plasma-Leerwert

Als Plasma-Leerwert wurde Blut eines 15-jährigen Patienten mit hypophysärem Minderwuchs und fehlender genitaler Entwicklung bestimmt.

Es ergaben sich bei sieben Bestimmungen Werte von 0.0 bis 100 ng%, mit einem Mittelwert von $40.0 \text{ ng\%} \pm 40.0 \text{ SD}$.

C. Ergebnisse

1. Plasmatestosteron gesunder Männer

Mit der oben angeführten Methode wurde die Plasmatestosteronkonzentration gesunder Männer im Alter von 18 bis 84 Jahren bestimmt.

Der Altersdurchschnitt betrug 47.6 Jahre.

Die Blutentnahmen erfolgten morgens zwischen 8 und 10 Uhr.

Die Gesamtzahl der Versuchspersonen betrug 71.

Als Durchschnittswert von 71 gesunden Männern verschiedenen Alters ergab sich eine Plasmakonzentration von 651 ± 205 ng%.

Plasmatestosteron gesunder Männer

Name	Alter	Testosteron ng%	Name	Alter	Testosteron ng%
B.A.	37	820	K.W.	51	630
H.L.	24	570	F.W.	34	630
H.G.	26	680	H.W.	30	575
G.K.	27	860	R.H.	41	540
S.M.	30	790	P.W.	73	860
G.K.	24	895	L.D.	72	220
F.K.	23	740	F.A.	63	680
F.E.	56	550	R.C.	50	380
J.E.	67	820	J.W.	77	220
A.vN.	53	530	S.B.	82	320
K.S.	62	625	J.H.	74	730

Name	Alter	Testosteron ng%	Name	Alter	Testosteron ng%
O.S.	23	620	F.F.	58	480
A.H.	47	460	L.H.	42	635
K.S.	70	835	A.E.	76	260
A.K.	73	400	R.K.	74	760
A.B.	38	945	K.L.	64	440
E.E.	24	950	M.M.	33	980
K.H.W.	27	910	U.H.	29	650
J.H.	59	720	O.G.	62	550
H.M.	69	585	E.G.	43	885
E.H.	53	925	H.S.	43	625
A.G.	76	700	J.R.	47	720
H.S.	70	310	P.S.	25	815
G.S.	60	840	I.K.	40	670
F.S.	18	940	W.R.	30	970
R.G.	20	860	J.H.	37	460
E.K.	29	810	E.H.	57	330
M.W.	34	500	J.D.	33	855
W.D.	28	780	M.D.	32	840
H.B.	30	385	G.B.	45	620
J.Z.	26	890	M.H.	69	460
G.S.	43	765	E.H.	50	750
S.L.	50	420	J.M.	62	475
J.G.	42	405	F.R.	53	700
P.U.	27	855	E.P.	81	280
			J.G.	84	540

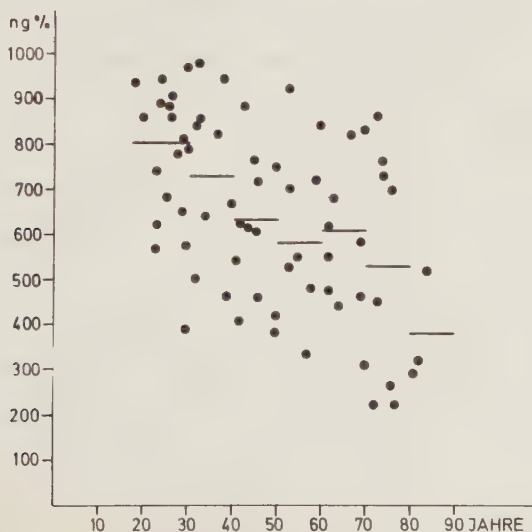
2. Einfluß des Lebensalters auf das Plasmatestosteron

Teilt man die Plasmatestosteronwerte der in dieser Arbeit untersuchten Männer nach Altersgruppen auf, ergeben sich folgende Werte:

Altersgruppe	Anzahl der Untersuchten	Mittelwert	Bereich
bis 19 Jahre	1	940	-
20 - 29 Jahre	15	792.3	570 - 950
30 - 39 Jahre	12	729.1	385 - 980
40 - 49 Jahre	10	632.5	405 - 885
50 - 59 Jahre	11	583.1	330 - 925
60 - 69 Jahre	9	608.5	440 - 840
70 - 79 Jahre	10	529.5	220 - 860
80 - 89 Jahre	3	380	280 - 540

Es fällt eine nur geringe Verminderung der Plasmatestosteronkonzentration der Gruppen von 40 - 69 Jahre gegen die Gruppe von 20 - 39 Jahre auf, dagegen eine deutliche Verminderung in den Gruppen von 70 - 89 Jahre gegen die erste und auch die zweite Gruppe. Die Streuung der Einzelwerte jedoch erreicht bis auf die - zahlenmäßig am geringsten vertretene - Gruppe über 80 Jahre in allen Gruppen die gleichen Höchstwerte, die niedrigsten Werte dagegen fallen kontinuierlich ab.

Abb. 11:

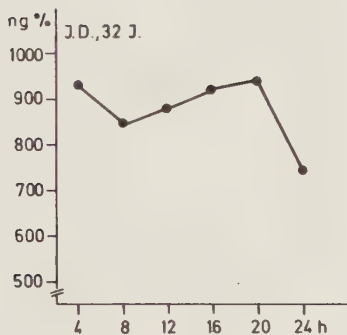
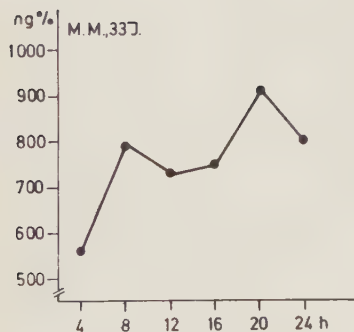
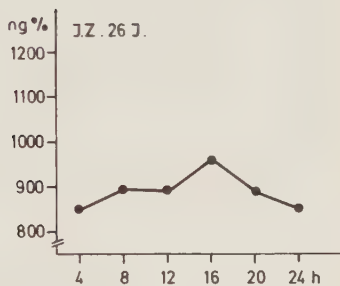
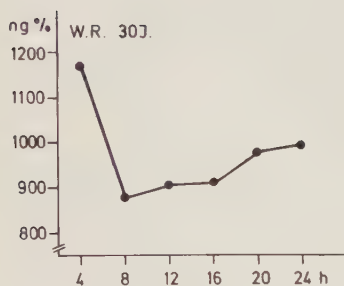


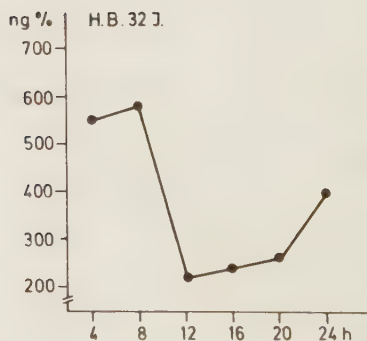
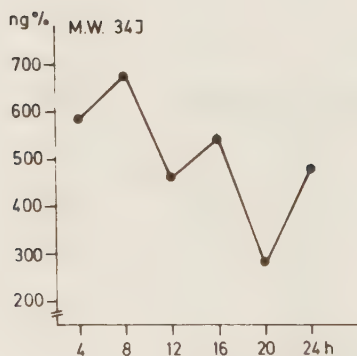
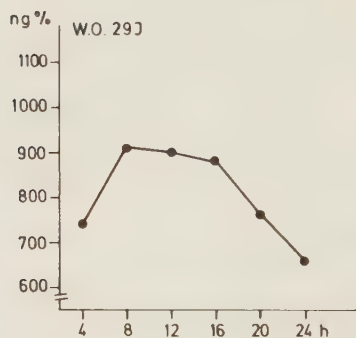
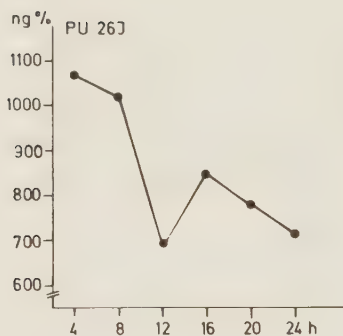
3. Tagesrhythmik des Plasmatestosterons

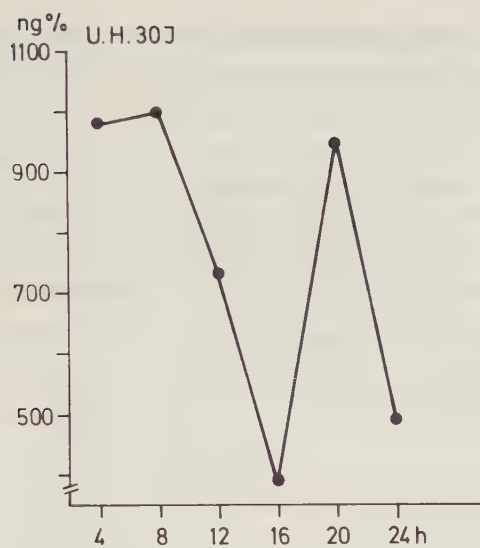
Zur Frage, ob die Plasmatestosteronkonzentration einer rhythmischen Tagesschwankung unterworfen ist, wurden neun gesunde Männer im Alter von 26 bis 34 Jahren untersucht. Die Blutentnahmen erfolgten in vierstündigem Abstand über 24 Stunden. Die einzelnen Werte zeigen die folgende Tabelle und die Abbildung.

Name	Alter	4 ⁰⁰	8 ⁰⁰	12 ⁰⁰	16 ⁰⁰	20 ⁰⁰	24 ⁰⁰	Mittelwert ± SD
W.R.	30	1170	875	905	910	975	995	970 ± 107
J.Z.	26	850	895	890	960	890	850	890 ± 40
M.M.	33	560	790	730	750	910	800	756 ± 114
J.D.	32	930	845	880	920	940	740	860 ± 84
P.U.	26	1070	1020	690	850	780	715	853 ± 159
W.D.	29	740	910	900	880	760	660	809 ± 103
M.W.	34	585	625	460	540	280	480	490 ± 119
U.H.	30	960	1000	730	390	950	490	750 ± 260
H.B.	32	550	580	220	240	260	400	376 ± 143
		823	826	700	713	746	681	
Mittelwert								
± SD		±229	±174	±227	±266	±285	±184	

Abb. 12: Tagesschwankungen des Plasmatestosterons bei neun Versuchspersonen



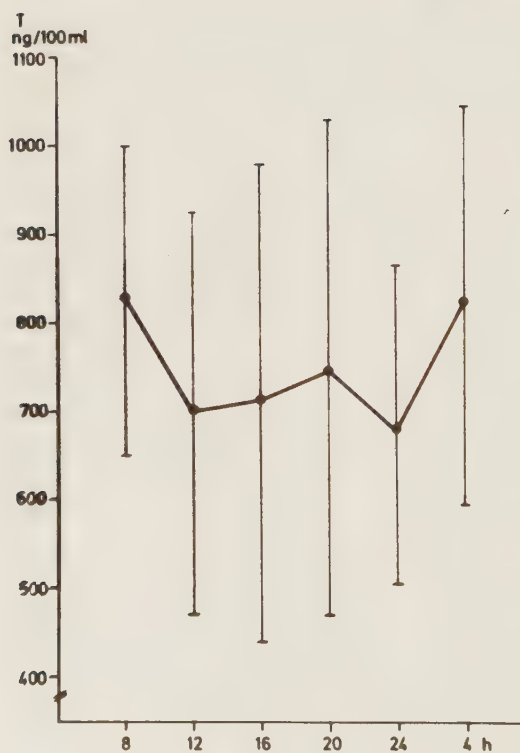




Die folgende Abbildung zeigt die Mittelwerte $\pm$ SD der im Abstand von vier Stunden gewonnenen Werte über 24 Stunden.

Abb. 13:

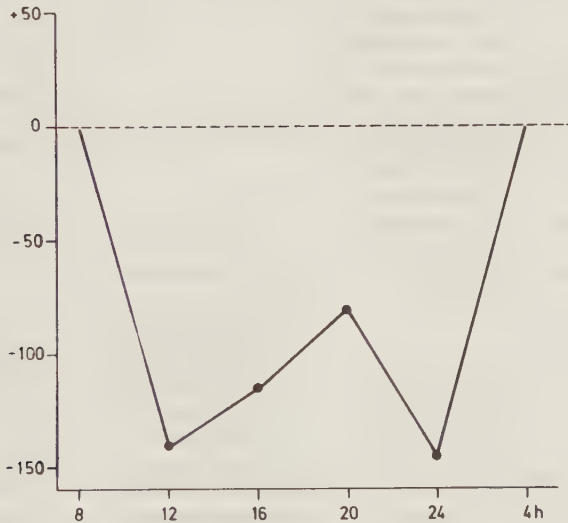
8 Uhr:	$826,6 \pm 174$ ng/100 ml
12 Uhr:	$700,5 \pm 227$ ng/100 ml
16 Uhr:	$713,3 \pm 266$ ng/100 ml
20 Uhr:	$746,6 \pm 285$ ng/100 ml
24 Uhr:	$681,0 \pm 184$ ng/100 ml
4 Uhr:	$823,3 \pm 229$ ng/100 ml



Nimmt man den 8-Uhr-Wert als Nullwert und trägt die mittlere absolute Abweichung von diesem Wert auf, ergibt sich bei 12 Uhr und 24 Uhr ein Absinken von 141 ng% bzw. 145 ng%, bei 4 Uhr wird der 8-Uhr-Wert wieder erreicht.

Der prozentuale Abfall vom 8-Uhr-Wert beträgt bei 12 Uhr und 24 Uhr 17 % bzw. 17.5 % und liegt damit - allerdings nur gering - außerhalb der methodischen Schwankungsbreite (die Variationskoeffizienten bei Zehnfachbestimmungen lagen zwischen 4.4 und 15.2 %).

Abb. 14: Mittlere absolute Abweichung vom 8-Uhr-Wert



4. Plasmatestosteron orchiectomierter bzw. hypogonader Männer

Bei sieben Patienten mit der klinischen Diagnose Hypogonadismus ergab sich ein Plasmatestosteron-Durchschnittswert von 363 ng/100 ml.

Bei 17 Männern, die wegen eines Prostata-Cardinoms orchiectomiert waren, und teilweise mit Oestrogenen behandelt wurden, ergab sich ein Durchschnittswert des Plasmatestosterons von 83.2 ng/100 ml.

Plasmatestosteron bei Männern mit Hypogonadismus bzw. Orchiectomie

Name	Alter	Diagnose	Plasmatestosteron ng/100 ml
H.W.	15	Hypogonitalismus	200
R.N.	20	Kryptorchismus	320
W.M.		Hypogonadismus	540
F.M.		Hypogonadismus	300
E.V.S.	27	Hypogonadismus	225
H.W.	30	Hypogonadismus	575
D.O.	27	Hypogonadismus	380
J.T.	70	Orchiectomie	100
J.K.	34	Orchiectomie	190
F.H.	79	Orchiectomie	20, 40
M.V.	55	Orchiectomie	80
J.E.	68	Orchiectomie	100, 180
N.M.	66	Orchiectomie	60
K.W.	74	Orchiectomie + Oestrogentherapie	100
K.N.	68	Orchiectomie + Oestrogentherapie	210
K.Z.	70	Oestrogentherapie	100
F.D.	73	Orchiectomie + Oestrogentherapie	110
X.L.	60	Orchiectomie + Oestrogentherapie	120
H.S.	57	Orchiectomie + Oestrogentherapie	20
W.H.	65	Orchiectomie + Oestrogentherapie	20
A.Z.	74	Orchiectomie + Oestrogentherapie	45
M.D.	82	Orchiectomie + Oestrogentherapie	40
P.O.	75	Orchiectomie + Oestrogentherapie	80
K.M.	73	Orchiectomie + Oestrogentherapie	20

5. Plasmatestosteron nach Stimulierung mit HCG

Bei zwei Männern wurde das Plasmatestosteron nach Stimulierung mit 3×5000 IE HCG bestimmt. Den Versuchspersonen wurde vor der Stimulierung um 9 und um 16 Uhr Blut entnommen, an den darauffolgenden drei Tagen wurden jeweils 5000 IE HCG am Morgen i.m. verabreicht und am 4. Tag um 9 und 16 Uhr wieder Blut entnommen.

Für die Testosteronkonzentrationen im Plasma ergaben sich folgende Werte:

Name	vor Stimulierung		$\bar{T}$	nach Stimulierung		$\bar{T}$	
	9.00 Uhr	16.00 Uhr		9.00 Uhr	16.00 Uhr		
Schl.A.	610	800	705	1170	1480	1325	ng%
Hü.D.	405	500	452	1300	1110	1205	ng%

Bei dem ersten Patienten ergab sich eine Steigerung nach Stimulation gegen den Ausgangswert auf 188 %, bei dem zweiten Patienten auf 266 %.

Der von Nieschlag und Mitarbeitern angegebene Stimulations-Koeffizient (59), der sich nach der Formel

$$\frac{T_S}{T_B} = \frac{\text{Testosteron nach Stimulation}}{\text{Testosteron-Basiswert}} = SK$$

berechnet, beträgt nach seinen Angaben 2.5 ± 0.2 .

Berechnet man auf diese Weise die Stimulationskoeffizienten der beiden Versuchspersonen, ergibt sich für den ersten Patienten ein Wert von 2.6, für den zweiten von 1.9.

6. Plasmatestosteron gesunder Frauen

Die Plasmatestosteronkonzentration von 14 gesunden Frauen im Alter von 28 bis 68 Jahren wurde untersucht.

Es ergab sich ein Durchschnittswert von 156 ng/100 ml, mit Werten im Bereich von 0 bis 340 ng%.

Eine Aufstellung der Einzelwerte gibt die folgende Tabelle.

Name	Alter	Testosteron ng/100 ml
E.M.	28	190
U.M.	28	260
H.S.	53	180
E.B.		90
E.A.	67	0
A.K.	33	170
E.H.	24	150
G.D.	28	200
L.R.	66	45
G.F.	34	125
L.H.	36	180
K.D.	62	90
E.H.		340
A.H.		270

7. Plasmatestosteron bei Frauen mit Hirsutismus und anderen endokrinologischen Erkrankungen

Drei Frauen mit Hirsutismus und leichten Graden von Virilisierung hatten Plasmatestosteronwerte von 310, 320 und 570 ng%. Eine 54-jährige Frau mit Cushing-Syndrom hatte einen Wert von 200 ng%, ein 13-jähriges Mädchen mit pubertas praecox 230 ng%.

D. Diskussion

1. Zum Plasmatestosteron gesunder Männer:

Der mit der oben beschriebenen Methode gefundene Mittelwert des Plasmatestosterons gesunder Männer im Alter von 19 bis 84 Jahren von 651 ± 205 ng/100 ml steht in guter Übereinstimmung mit Werten aus der Literatur, die mit verschiedenen Methoden bestimmt wurden. Eine Übersicht über die von verschiedenen Autoren angegebenen Werte gibt die Tabelle I. Als einzige erscheinen die Werte von Finkelstein et al. (22) und Oertel et al. (61) deutlich niedriger als die der übrigen Autoren. In einer weiteren Untersuchung geben Oertel et al. (63) an, mit dieser Methode erst nach Stimulierung mit HCG meßbare Konzentrationen von Testosteron im Plasma gefunden zu haben. Weiterhin schränkt auch die geringe Anzahl der Versuchspersonen in diesen beiden Arbeiten die Aussage als Durchschnittswert ein, wie auch die Untersuchungen von Kirschner et al. (42), Gordon et al. (31), Dufau et al. (16) und Ismail (37) nur mit Einschränkungen als Durchschnittswerte zu betrachten sind, da in diesen Kollektiven die höheren Altersgruppen nicht berücksichtigt sind. Die in letzter Zeit mit der kompetitiven Proteinbindungsmethode und Radioimmunoassay bestimmten Werte von Frick et al. (26), Chen et al. (11), Mayes et al. (51), Ismail et al. (36) und Vermeulen et al. (80) bestätigen die Werte dieser Arbeit nicht nur im Durchschnittswert sondern auch in Hinsicht auf die große Schwankungsbreite der Einzelwerte in einem Kollektiv gesunder Männer.

Bei den Untersuchungen dieser Arbeit liegt der höchste Wert bei 970 ng%, der niedrigste bei 220 ng%, beide Werte liegen noch im Bereich der doppelten Standardabweichung.

2. Zum Einfluß des Lebensalters auf das Plasmatestosteron

Der Einfluß des Lebensalters auf die Plasmatestosteronkonzentration ist von verschiedenen Autoren untersucht worden. Frasier et al. (25) und Gandy et al. (29) untersuchten den Anstieg des Plasmatestosterons bei männlichen Kindern in verschiedenen Stadien der Pubertät und fanden trotz einiger Überschneidungen gute Übereinstimmung des Anstiegs der Testosteronkonzentration mit den Pubertätsgraden, nicht aber im Einzelfall mit dem chronologischen Alter; der Plasmatestosteronspiegel erwachsener Männer wird jedoch erst nach dem 16. Lebensjahr erreicht. Diese Angaben werden von den Ergebnissen von Knorr (43) bestätigt, der einen signifikanten Anstieg in der Testosteronausscheidung im Urin bei Kindern von 9 - 10 Jahren gegen eine vorpubertäre Gruppe fand und einen hochsignifikanten in den Altersgruppen ab 11 Jahren, erst nach dem 18. Jahr aber ließen sich die Werte mit denen erwachsener Männer vergleichen.

Untersuchungen über die Beziehung zwischen Plasmatestosteron und steigendem Lebensalter bei erwachsenen Männern liegen von Coppage et al. (13), Gandy et al. (29), Frick et al. (27), Kirschner et al. (41), Nieschlag et al. (60) und Vermeulen et al. (80) vor.

Coppage und Mitarbeiter (13) teilten ihre Versuchspersonen in Altersgruppen von 16 - 43 Jahren ($n=10$) und 46 - 92 Jahren ($n=19$), ihr Wert für die Plasmatestosteronkonzentration der jüngeren Gruppe liegt bei 650 ng% mit einer Streuung von 480 - 790 ng%, für die ältere Gruppe bei 500 ng% mit einer Streuung der Einzelwerte von 220- 680 ng%.

Gandy et al. (29) fanden für Männer von 20 - 45 Jahren ($n=62$) Plasmatestosteron von 670 ± 230 ng% mit einer Streuung von 280 - 1440 ng%, bei Männern von 60 - 80 Jahren ($n=14$) 580 ± 220 ng% mit Einzelwerten von 340 - 1510 ng%.

Diese Autoren verneinen einen signifikanten Unterschied der Plasmatestosteronkonzentration bei den von ihnen verglichenen Altersgruppen. Im Gegensatz dazu steht die Arbeit von Kirschner et al. (41), die über einen deutlichen Unterschied des Plasmatestosterons bei 12 Männern von 18 - 38 Jahren von 640 ng% (Streuung der Einzelwerte von 470 - 1050) und bei 6 Männern von 55 - 65 Jahren von 430 ng% (Streuung der Einzelwerte von 300 - 640 ng%) berichten.

Ebenso fanden Nieschlag und Mitarbeiter (60) eine Verminderung des Plasmatestosterons bei Männern von 60 - 90 Jahren ($n=16$) mit 607 ± 38 ng% gegen Männer von 20 - 60 Jahren ($n=19$) mit 742 ± 34 ng%.

Auch Frick et al. (27) verglichen die Plasmatestosteronkonzentration von Männern im Alter von 18 - 35 Jahren ($n=21$) von 740 ± 290 ng% mit der von Männern über 60 Jahre. Sie unterteilten die Altersgruppe der über 60jährigen in Probanden mit unauffälliger Hodenhistologie und Spermatogramm ($n=4$), deren Plasmatestosteron bei 850 ± 100 ng% lag, und eine zweite Gruppe, deren Hodenhistologie und Spermatogramm pathologische Veränderungen zeigten ($n=13$) und deren Plasmatestosteron mit 260 ± 120 ng% deutlich niedriger lag.

Die ausführlichste Arbeit zur Frage der Altersabhängigkeit des Plasmatestosterons legten Vermeulen und Mitarbeiter (80) vor. Sie untersuchten 154 Männer im Alter von 20 - 90 Jahren. Ihre Werte für die Plasmakonzentrationen der einzelnen Altersgruppen sind in der folgenden Tabelle angegeben.

		Plasma testosterone (ng/100 ml)	
Age yr	n	Mean $\pm$ SE	Range
20 - 30	34	616 $\pm$ 43	280 - 1205
30 - 40	22	643 $\pm$ 41	350 - 1010
40 - 50	24	640 $\pm$ 49	255 - 1025
50 - 60	10	582 $\pm$ 62	255 - 950
60 - 70	12	462 $\pm$ 70	120 - 780
70 - 80	30	373 $\pm$ 46	38 - 850
80 - 90	23	245 $\pm$ 26	28 - 390

Nach Vermeulen et al. (80)

Dabei fanden die Autoren keinen Unterschied in den Gruppen von 20 bis 50 Jahren, wohl aber eine signifikante Erniedrigung des Plasmatestosterons der Gruppen über 60 Jahre gegen die ersten drei Gruppen. Sie betonen aber auch, daß auch in den höchsten Altersgruppen Einzelwerte durchaus mit Werten der jüngeren Gruppen vergleichbar sind. Auch die in dieser Arbeit gefundenen Werte für die einzelnen Altersgruppen zeigen einen deutlichen Abfall des Plasmatestosterons erst in den Gruppen über 70 Jahre, wobei neben dem niedrigen Mittelwert auch die große Streubreite der Einzelwerte in den höheren Altersgruppen auffällig ist.

3. Zur Tagesrhythmik des Plasmatestosterons

Ausgehend von der bekannten Tagesschwankung der Plasmakonzentration der NNR-Hormone (6,30) lag die Frage einer ähnlichen Rhythmik beim Plasmatestosteron nahe.

Kirschner et al. (41) untersuchten 8 Männer, deren Plasmatestosteron um 8 und um 16 Uhr gemessen wurde. Sie fanden dabei keinen wesent-

lichen Unterschied der beiden Werte und verneinten auf Grund dieses Befundes eine Tagesschwankung für Testosteron. Ebenso fanden Kobayashi et al. (44) bei ihrer Untersuchung von 6 gesunden Männern, bei denen sie Plasmatestosteron um 9 und um 17 Uhr bestimmten, keinen signifikanten Unterschied der beiden Konzentrationen.

Dray et al. (15) untersuchten Plasma von 6 Männern in 6stündigen Intervallen und bejahten eine circadiane Rhythmik. Resko und Eik-Nes (69) untersuchten 20 gesunde Männer im Alter von 21 bis 28 Jahren, die Blutentnahmen erfolgten häufiger als bei den oben genannten Autoren, in 4stündigem Abstand. Dabei fanden sie eine signifikante Erniedrigung des Plasmatestosterons bei 12, 16 und 20 Uhr gegen den 8-Uhr-Wert. Bei vier von 13 Versuchspersonen bestanden keine oder nur geringe Schwankungen im Tagesverlauf und auch bei den übrigen Versuchspersonen erreichten die Schwankungen bei weitem nicht die Höhe der für die NNR-Hormone bekannten Unterschiede der Plasmakonzentrationen.

In ihrer Arbeit über circadiane Rhythmik von NNR-Hormonen und anderen Plasmaparametern sicherten Gordon et al. (30) die Existenz der rhythmischen Tagesschwankung für die NNR-Hormone im Plasma und in der Urinausscheidung, verneinten aber eine Schwankung des Plasmatestosterons. Sie untersuchten Plasma und Urin von 8 gesunden Männern im Alter von 22 bis 30 Jahren in 3-stündlichem Abstand.

Faiman et al. (21) untersuchten in einer Arbeit über die Tagesschwankungen von FSH, LH, Testosteron und Cortisol 8 Männer im Alter von 21 bis 38 Jahren mit und ohne Dexamethason-Suppression. In einer früheren Arbeit (20) schon fanden sie FSH-Schwankungen mit höchsten Werten in den frühen Morgenstunden, im Gegensatz zu den Ergebnissen Franchemonts (24), während Plasma-LH keine regelmäßigen Schwankungen zeigte. Diese Ergebnisse werden bestätigt, gleichzeitig auch eine signifikante Erniedrigung des Plasmatestosterons um 24 Uhr gegen die Werte

um 8 Uhr morgens gefunden. Die Medikation von Dexamethason beeinflusste weder den Plasmaspiegel noch die rhythmische Schwankung von Testosteron.

Diese Ergebnisse stehen in Übereinstimmung mit Tamm et al. (75), die nur bei orchiectomierten Männern eine Änderung der Testosteronausscheidung im Urin nach ACTH und Dexamethason fanden, nicht aber bei gesunden Männern.

Crafts et al. (14) untersuchten den Einfluß eines veränderten Schlaf-Wach-Rhythmus auf die Tagesschwankung von 17-OH-Corticoiden, Testosteron, Androstendion und LH bei der Besatzung eines Unterseebootes. Bei Kontrolluntersuchungen bei normalem 24-Stunden-Tag fanden sie den höheren Plasmaspiegel für Corticosteroide und auch für Testosteron und Androstendion in den frühen Morgenstunden. Bei Einhaltung eines 18-Stunden-Tages verschoben sich die höchsten Plasmaspiegel für Corticosteroide und Androstendion, nicht aber für Testosteron und LH. Nieschlag und Ismail (58) zeigen bei ihrer Untersuchung an 9 Männern eine deutliche Erniedrigung des Plasmatestosterons am Abend gegen die morgendlichen Werte, deuten im Gegensatz zu den oben erwähnten Ergebnissen von Crafts aber an, daß Änderungen des Schlaf-Wach-Rhythmus, bzw. Schlafentzug und Streßsituationen den Rhythmus und auch die Höhe des Plasmatestosterons zu beeinflussen scheinen.

Auch Okamoto et al. (64) fanden bei 5 Männern eine Schwankung der Plasmakonzentration und der Urinausscheidung von Testosteron, wobei ihre höchsten Werte im Plasma bei 14 Uhr und ähnlich hoch bei 10 Uhr lagen. Die niedrigsten Werte lagen bei 14 Uhr, damit unterscheiden sie sich in der zeitlichen Festlegung von den anderen Autoren.

Littmann et al. (48) fanden in ihrer Arbeit über Plasmatestosteron und HCG-Stimulierung bei Gesunden und Patienten mit Lebererkrankungen eine deutliche Tagesrhythmik der 10 gesunden Männer mit höchsten

Werten um 8 Uhr und niedrigsten um 20 Uhr. Bei den Patienten mit Lebererkrankungen war die Tagesrhythmik aufgehoben, der Plasmaspiegel teilweise erniedrigt.

Boon et al. (7) fanden bei 10 Männern zwar beträchtliche intraindividuelle Schwankungen des Plasmatestosterons, aber keinen eindeutigen Tagesrhythmus. Ihr hoher Mittelwert in den frühen Nachmittagsstunden, der zwar in Übereinstimmung mit Okamoto steht, sich aber von allen anderen Autoren unterscheidet, wird durch einen exzessiv hohen Wert bedingt, der sich auch von den drei weiteren Werten dieser Versuchsperson deutlich abhebt. Vernachlässigt man diesen Wert bei der Berechnung des Mittelwertes, liegt dieser deutlich unter dem zweithöchsten Wert in den Morgenstunden. Im übrigen zeigen die von diesen Autoren angegebenen Werte die größten intraindividuellen Schwankungen und einzelne Werte liegen außerhalb des Normalbereiches für gesunde Männer.

In dieser Arbeit wurde die Schwankung der Plasmatestosteronkonzentration über 24 Stunden an neun gesunden Männern untersucht. Die für die einzelnen Versuchspersonen bestimmten Tagesprofile zeigen in zwei Fällen kaum Änderungen des Plasmatestosterons über 24 Stunden, bei den übrigen 7 Versuchspersonen große Schwankungen, deren höchster Wert nicht immer in den frühen Morgenstunden liegt. Betrachtet man jedoch die Mittelwerte der neun Personen, so liegen die Werte von 12, 16, 20 und 24 Uhr deutlich niedriger als die Werte von 4 und 8 Uhr, und die mittlere absolute Abweichung vom 8-Uhr-Wert läßt eine deutliche Tagesschwankung mit höchsten Werten bei 4 und 8 Uhr erkennen.

4. Zum Plasmatestosteron bei orchiektomierten und hypogonaden Männern

In der Literatur finden sich nur wenige Angaben über Plasmatestosteron orchiektomierter Männer. Die Werte von Vermeulen (78) von 46 ng% und 66 ng% bei zwei Patienten, von Nieschlag et al. (59) von 65 ng%

und 95 ng% und Coppage et al. (13) von 96 ng% bei 12 Patienten stehen in guter Übereinstimmung mit den in dieser Arbeit gefundenen Werten. Tamm und Mitarbeiter (75) berichten über die signifikant niedrigere Testosteron-Ausscheidung im Urin dreier orchiectomierter Männer.

Der Durchschnittswert des Plasmatestosterons dieser Arbeit, der aus Untersuchungen an 17 orchiectomierten Männern ermittelt wurde, liegt bei 83.2 ng/100 ml mit einer Streubreite von 20 bis 210 ng/100 ml.

5. Zum Plasmatestosteron nach Stimulierung mit HCG

Das Verhalten von Plasmatestosteron und der Testosteron-Ausscheidung im Urin nach Gabe von HCG wurde von verschiedenen Autoren untersucht. Die HCG-Einzeldosis lag zwischen 1000 und 5000 IE HCG, die Dauer der Stimulierung zwischen einem und sieben Tagen. Korenmann et al. (45) berichten über Anstieg der Testosteron-Produktionsrate nach Stimulierung mit 5 x 1000 IE HCG, Rivarola et al. (67) nach 5 x 5000 IE, Guerra-Garcia et al. (31a) über Steigerung der Testosteronausscheidung im Urin nach Injektion von 4 x 2500 IE HCG und Tamm et al. (75) nach 3 x 3000 IE HCG.

Eik-Nes (17) fand schon eine Stunde nach HCG-Injektion einen Anstieg der Testosteronkonzentration im Plasma der Vena spermatica des Hundes.

Frasier et al. (25) sahen bei zwei präpubertären Knaben nach Stimulierung mit 3 x 5000 IE ein promptes Ansteigen des Plasmatestosterons auf Werte älterer Knaben, Chen et al. (11) beobachteten bei neun urämischen Patienten nach 2- bis 7-tägiger Gabe von 4000 IE HCG im Mittel eine Verdoppelung der Plasmatestosteronkonzentration, Littmann und Gerdes (48) nach Applikation von 3 x 5000 IE bei Gesunden sowie bei Patienten mit akuter Hepatitis fast eine Verdreifachung des Plasmatestosterons, bei Patienten mit Leberzirrhose und Hämochromatose jedoch einen signi-

fikant geringeren Anstieg. Maurer et al. (50) berichten als einzige über Stimulierung mit HCG in verschiedener Dosierung als intravenöse Infusion. Sie fanden nach einem - in der Ursache ungeklärten - initialen Abfall des Testosteronspiegels nach Beendigung der Infusion einen Anstieg um maximal 43 % bei 500 und um 82 % bei 100 IE HCG. In dieser Arbeit wurde zwei Patienten jeweils 3 x 5000 IE HCG verabreicht. Zum Ausschluß eines durch Tagesschwankung zu hohen oder zu niedrigen Ausgangswertes wurde vor der Stimulierung um 9 und um 16 Uhr Blutentnommen und der Mittelwert der beiden Konzentrationen als Basiswert angenommen, wie auch Nieschlag et al. (59) empfehlen. Nach der dreitägigen HCG-Gabe lag die Testosteronkonzentration - wieder als Mittelwert der 9- und 16-Uhr-Konzentration - bei 187 und 266 % des Ausgangswertes. Diese Werte stimmen gut mit den Werten von Nieschlag et al. (59) und Littmann et al. (48) überein, liegen jedoch höher als die von Bardin et al. (5) und Rivarola et al. (67) angegebene Steigerung um etwa 100 %.

6. Zum Plasmatestosteron gesunder Frauen

Eine Übersicht über die bei gesunden Frauen gefundenen Durchschnittswerte für Plasmatestosteron gibt die anschließende Tabelle.

Der in dieser Arbeit gefundene Durchschnittswert des Plasmatestosterons für gesunde Frauen liegt mit 156 ng/100 ml (Streuung von 0 bis 340 ng/100 ml) deutlich höher als die Werte anderer Autoren (12, 28, 31, 33, 37, 41, 51), die mit verschiedenen Methoden ermittelt wurden.

Nach den Vorversuchen, die im Rahmen dieser Arbeit zur Untersuchung weiblichen Plasmas vorgenommen wurden, kann man annehmen, daß das Plasmatestosteron bei Frauen mit dieser Methode nur nach chromatographischer Vorreinigung des Plasmaextraktes bestimmt werden kann.

Autor	Anzahl und Geschlecht d. Versuchspersonen	Alter der Versuchspersonen	Besonderheiten, Diagnose	Testosteron im Plasma ng% $\pm$ SD	Methode
Finkelstein, M. et al. (J.Clin.Endocr. 21 (1961) 22)	3 m	28 - 40	gesund	<100, 200, 400 100, <100 1300, 2000	Fluorimetrische Messung nach enzymatischer Umwandlung in 17- β -Östradiol
	2 w	22, 35	gesund		
	2 w	27, 71	NNR-Adenom Ovarial-Tumor		
Oertel, G.W. et al. (Klin.Wschr. 39 (1961) 63)	5 m	22 - 27	gesund	180 - 260	Fluorimetrische Messung nach enzymatischer Umwandlung in 17- β -Östradiol
Forchielli, E. et al. (Analyt.Biochem. 5 (1963) 23)	9 m	23 - 74	gesund	560 (100 - 980) 120 (20 - 260)	Aromatisierung von Testosteron zu Östradiol mit Plazenta-Enzymen
	10 w	22 - 35	gesund		
Coppage, W.S. et al (New Engl.J.Med. 273 (1965) 13)	10 m	16 - 43	gesund	650 (480 - 790) 500 (220 - 680)	Isotopenverdünnungsmethode
	19 m	46 - 92	gesund		
	12 m	50 - 82	Orchiektomie	96 (13 - 180) 140 (52 - 230) 220 (11 - 550) 220, 310, 400	
	6 m	49 - 68	Hypopituitarismus		
	12 m	32 - 68	Laennec-Zi. Hodenatrophie chrom.pos. Klinefelter		
	3 m	33 - 57	Azoospermie Infertilität		
	3 m	17 - 37	gesund		
	8 w	21 - 45	gesund		

Autor	Anzahl und Geschlecht d. Versuchspersonen	Alter der Versuchspersonen	Besonderheiten, Diagnose	Testosteron im Plasma ng% $\pm$ SD	Methode
Kirschner, M.A. et al. (J. Clin. Invest. 44 (1965) 41)	15 m	18 - 44	gesund	740 $\pm$ 260 (440 - 1300)	Isotopenverdünnungsmethode
	10 w			70 $\pm$ 30 (20 - 120)	
Lipsett, M.B. et al. (J. Clin. Endocr. 25 (1965) 47)	3 m		chrom. pos. Klinefelter	410 (380 - 450)	Isotopenverdünnungsmethode
Kobayishi, T. et al. (J. Clin. Endocr. 26 (1966) 44)	6 m	31,4 $\pm$ 2,9	gesund (Jap.)	610 $\pm$ 210	Isotopenverdünnungsmethode
	8 m	29,8 $\pm$ 4,5	gesund (Amerik.)	630 $\pm$ 140	
Hallberg, M.C. et al. (Steroids 12 (1968) 33)	6 m		gesund	320 (200 - 400)	kompetitive Proteinbindungsmethode
	8 w		gesund	100 (60 - 130)	
	5 m		hypogonadotrophe, Hypogonadale Män.	50 (30 - 100)	
Mayes, D. et al. (J. Clin. Endocr. 28 (1968) 51)	18 w		gesund	40 $\pm$ 14 (20 - 76)	kompetitive Proteinbindungsmethode
	16 m		gesund	680 $\pm$ 180 (450 - 960)	

Autor	Anzahl und Geschlecht d. Versuchspersonen	Alter der Versuchspersonen	Besonderheiten, Diagnose	Testosteron im Plasma ng% $\pm$ SD	Methode
Guevara, A. et al. (Metabolism 18 (1969) 32)	15 m	22 - 63	gesund	620 ± 217 (300 - 1200)	
	6 m	19 - 65	urämisch	256 (101 - 426)	
Gordon, G.G. et al. (J.Clin.Endocr. 29 (1969) 31)	7 m	23 - 28	gesund	660 ± 130	Isotopenverdünnungsmethode
	4 w	23 - 35	gesund	44 $\pm$ 8	
	3 m	23 - 59	Hyperthyreose	980 $\pm$ 160	
	9 w	18 - 51	Hyperthyreose	111 $\pm$ 50	
	8 w	28 - 57	Hypothyreose	32 $\pm$ 25	
Frick, J. et al. (Steroids 13 (1969) 26)	21 m	18 - 35	gesund	740 ± 290	kompetitive Proteinbindungsmethode
	13 m	60	Hodenhistologie u. Spermatogramm verändert	260 $\pm$ 120	
	4 m	60	Hodenhistologie u. Spermatogramm o.B.	850 $\pm$ 100	
Fraser, S.D. et al. (J.Clin.Endocr. 29 (1969) 25)	47 m	4 - 15 9/12	Pubertätsstad. I	39 ± 5	Isotopenverdünnungsmethode
			Pubertätsstad. II	73 $\pm$ 19	
			Pubertätsstad. III	182 $\pm$ 55	
			Pubertätsstad. IV	465 $\pm$ 66	
Chen, J.C. et al. (J.Clin.Endocr. 31 (1970) 11)	12 m		gesund	620 ± 217	kompetitive Proteinbindungsmethode
	10 w		gesund	40 $\pm$ 50	
	15 m		Urämie, Hämodialyse	262 $\pm$ 162	

Autor	Anzahl und Geschlecht d. Versuchspersonen	Alter der Versuchspersonen	Besonderheiten, Diagnose	Testosteron im Plasma ng% $\pm$ SD	Methode
Furuyama, S. et al. (Steroids 16 (1970) 28)	13 m 12 w		gesund gesund	590 $\pm$ 149 32 $\pm$ 7	Radioimmunoassay
Chen, J.C. et al. (Clin.Chem. 17 (1971) 12)	17 m 17 w	17 - 55	gesund gesund	667 $\pm$ 248 69 $\pm$ 18	Radioimmunoassay
Okamoto, M. et al. (J.Clin.Endocr. 32 (1971)	11 m 10 m	25 - 45 17 - 47	non-Ainu-Japaner Ainu	630 $\pm$ 82 (SE) 600 $\pm$ 30 (SE)	kompetitive Proteinbindungs- methode
Okamoto, M. et al. (J.Clin.Endocr. 32 (1971)	5 m	20 - 23	gesund, Bettruhe	540 $\pm$ 30 (SE) (430 - 630)	kompetitive Proteinbindungs-
Bundschu, H.D. et al. (Klin.Wschr. 50 (1972) 9)	20 m 12 m	20 - 55	gesund Niereninsuff. Hämodialyse, kein klin.Hypo- gonadismus	456 $\pm$ 37 286 $\pm$ 56	Gaschromatographie
Dufau, M.L. et al. (Clin.Chim.Acta 37 (1972) 16)	30 m 22 w	25 - 40 Prämenopaus	gesund gesund	709 $\pm$ 143 543 $\pm$ 22, 2	Radioimmunoassay
Ismail, A.A.A. et al. (J.Clin.Endocr. 34 (1972) 37)	9 m 6 w 4 w	21 - 45 20 - 35	gesund gesund schwanger	596 $\pm$ 202 46 $\pm$ 21 97 $\pm$ 24	Radioimmunoassay

Autor	Anzahl und Geschlecht d. Versuchspersonen	Alter der Versuchspersonen	Besonderheiten, Diagnose	Testosteron im Plasma ng% $\pm$ SD	Methode
Vermeulen, A. et al. (J. Clin. Endocr. <u>34</u> (1972) 80)	80 m	20 - 50	ambulante Pat. ohne schwerere Beeinträchtigung	633 $\pm$ 25 (255 - 1205)	Gaschromatographie
	22 m	50 - 70	"	522 $\pm$ 65 (120 - 950)	
	30 m	70 - 80	"	373 $\pm$ 46 (38 - 850)	
	23 m	80 - 90	"	245 $\pm$ 26 (28 - 390)	

E. Zusammenfassung

Mit einer radioimmunologischen Methode wurde Testosteron im Plasma ohne chromatographische Reinigung der Plasmaextrakte gemessen, um zu prüfen, ob dieses vereinfachte Nachweisverfahren zur Abklärung der inkretorischen Hodenfunktion geeignet ist.

Bei dieser Methode werden die Plasmaproteine mit Äthanol ausgefällt, der Überstand ohne weitere chromatographische Reinigung abgedampft und dann Testosteron-Antikörper und radioaktiv markiertes Hormon zugegeben. Die Trennung von Antikörper-gebundenem und freiem Hormon erfolgt mit Amberlite-beschichteten Kunststoffstreifen.

Die Durchführung der Methode wird beschrieben, die einzelnen Reaktionsschritte diskutiert und in ihrer Zuverlässigkeit geprüft. Die Genauigkeit in der Serie bei Eichwerten ergab bei 7 Versuchen einen maximalen Variationskoeffizienten von 3.7 %, bei Zehnfachwerten von Plasmawerten lag der Variationskoeffizient zwischen 4.4 % und 15.2 %. Die Genauigkeit von Tag zu Tag bei Eichwerten in Prozent der zugesetzten Radioaktivität zeigte gute Übereinstimmung, die Reproduzierbarkeit der Plasmawerte bei Bestimmungen an verschiedenen Tagen ergab bei 9 Werten einen Variationskoeffizienten von 6.2 %.

Der Leerwert für Wasser zeigte starke Schwankungen um den Nullwert mit maximalen negativen Werten von -100 ng und maximalen positiven Werten von +80 ng. Der Wert für Plasma eines Kindes mit hypophysärem Minderwuchs ergab einen Mittelwert von $40.0 \text{ ng\%} \pm 40.0 \text{ SD}$.

Mit dieser Methode wurde der Durchschnittswert des Plasmatestosterons von 71 gesunden Männern im Alter von 18 bis 84 Jahren bestimmt. Es ergab sich ein Durchschnittswert von $651 \text{ ng/100 ml} \pm 205 \text{ (SD)}$. Dieser Wert

zeigt mit den in der Literatur angegebenen, mit verschiedenen Methoden bestimmten Plasmatestosteronkonzentrationen gesunder Männer eine gute Übereinstimmung.

Weiterhin wird der Einfluß des Lebensalters auf das Plasmatestosteron untersucht und anhand der Literatur diskutiert. Bei Unterteilung der 71 Untersuchungen nach Altersgruppen zeigt sich eine nur geringe Verminderung des Plasmatestosterons in den Gruppen von 40 bis 69 Jahren im Vergleich zu der Gruppe der 20- bis 39-jährigen Männer, jedoch ein deutliches Absinken des Plasmatestosterons in der Gruppe von 70 bis 89 Jahren. Dabei wurden jedoch auch in der höchsten Altersgruppe Einzelwerte erreicht, die im oberen Bereich der Norm liegen.

Ob die Plasmatestosteronkonzentration eine Tagesrhythmik zeigt, wird in der Literatur gegensätzlich beurteilt; es wurde deshalb der Testosteronspiegel von 9 gesunden Männern im Alter von 26 bis 34 Jahren in vierstündigem Abstand bestimmt. Die Einzelwerte zeigten in zwei Fällen keine signifikanten Schwankungen der Testosteronkonzentration, die Mittelwerte waren jedoch in den Morgenstunden zwischen 4 und 8 Uhr am höchsten.

Die Plasmatestosteronkonzentration wurde bei 17 orchiectomierten Männern bestimmt. Sie lag mit im Mittel 83.2 ng/100 ml erwartungsgemäß deutlich unter dem Normalbereich gesunder Männer und stimmt mit den in der Literatur angegebenen Werten gut überein.

Bei der Bestimmung des Plasmatestosterons nach Stimulierung mit Choriongonadotropinen (3mal 500 IE HCG) fand sich ein Anstieg der Plasmatestosteronkonzentration am vierten Tag um 187 % und 266 % und stimmt damit mit in der Literatur angegebenen Steigerungsraten überein.

Bei Bestimmung der Testosteronkonzentration im Plasma gesunder Frauen (n = 14) im Alter von 28 bis 68 Jahren ergab sich ein Durchschnittswert

von 156 ng/100 ml, der damit deutlich höher liegt als die in der Literatur angegebenen Werte. Nach den Ergebnissen dieser Untersuchungen läßt sich Plasmatestosteron bei Frauen ohne chromatographische Reinigung des Plasmaextraktes nicht bestimmen.

Literaturverzeichnis

1. Abraham, G.E. and P.K. Grover:
Covalent linkage of Steroid Hormones to Protein Carriers for Use in Radioimmunoassay
In: Odell, W.D. and W.H. Daughaday (eds): Principles of Competitive Protein-Binding Assays
J.B. Lippincott Comp. 1971, 116
2. Anderson, D.C.:
A Simple and Clinically Useful Method for Plasma Testosterone-like Substances by Competitive Protein Binding
Clin.chim.Acta 29 (1970) 513
3. August, G.P., M. Tkachuk and M.M. Grumbach:
Plasma Testosterone-Binding Affinity and Testosterone in Umbilical Cord Plasma, Late Pregnancy, Prepubertal Children and Adults
J.Clin.Endocr. 29 (1969) 891
4. Bardin, C.W. and M.B. Lipsett:
Testosterone and Androstenedione Blood Production Rates in Normal Women and Women with Idiopathic Hirsutism or Polycystic Ovaries
J.Clin.Invest. 46 (1967) 891
5. Bardin, C.W., W.C. Hembree and M.B. Lipsett:
Suppression of Testosterone and Androstenedione Production Rates with Dexamethasone in Women with Idiopathic Hirsutism and Polycystic Ovaries
J.Clin.Endocr. 28 (1968) 1300
6. Bliss, E.L., A.A. Sandberg, D.H. Nelson and K.B. Eik-Nes:
The Normal Levels of 17-Hydroxy-Corticosteroids in the Peripheral Blood of Man
J.Clin.Invest. 32 (1953) 818
7. Boon, D.A., R.E. Keenan and W.R. Slaunwhite jr.:
Plasma Testosterone in Men: Variation, but not Circadian Rhythm Steroids 13 (1972) 269

8. Brownie, A.C., H.J. van der Molen, E.E. Nishizawa and K.B.Eik-Nes:
J.Clin.Endocr. 24 (1964) 1091
9. Bundschuh, H.D. und H. Gupta:
Über das Verhalten des Plasmatestosterons bei Männern unter intermittie-
render Dauerdialysebehandlung
Klin.Wschr. 50 (1972) 711
10. Chen, P.S., T.H. Mills and F.C. Bartter:
Ultrafiltration Studies of Steroid-Protein Binding
J.Endocr. 23 (1961) 129
11. Chen, J.C., D.G. Vidt, E.M. Zorn, M.C. Hallberg and R.G. Wieland:
Pituitary-Leydig Cell Function in Uremic Males
J.Clin.Endocr. 31 (1970) 98
12. Chen, J.C., E. Zorn, M. Hallberg and R.G. Wieland:
Antibodies to Testosterone-3-Bovine-Serum-Albumine, Applied to Assay
of Serum 17-B-ol-Androgenes
Clin.Chem. 17 (1971) 581
13. Coppage, W.S. and A.E. Cooner:
Testosterone in Human Plasma
New Engl.J.Med. 273 (1965) 902
14. Crafts, R., L.A. Llerena, A. Guevara, J. Lobotsky and C.W. Lloyd:
Plasma Androgenes and 17-Hydroxycorticosteroids throughout the Day in
Submarine Personnel
Steroids 12 (1968) 151
15. Dray, F., A. Reinberg and J. Sebaoun:
Rhythme biologique de la Testosterone libre de Plasmе chez l'Homme
adult sain: Existence d'une Variation circadienne
C.R.Acad.Sci. (Paris) 261 (1965) 573
16. Dufau, M.L., K.J. Catt, T.Tsuruhara and D. Ryan:
Radioimmunoassay of Plasma Testosterone
Clin.Chim.Acta 37 (1972) 109

17. Eik-Nes, K.B.:
Secretion of Testosterone in anaesthetized Dogs
Endocrinology 71 (1962) 101
18. Ekins, R.P.:
The Estimation of Thyroxine in Human Plasma by an Electro-
phoretic Technique
Clin.Chim.Acta 5 (1960) 453
19. Erlanger, B.F., S.M. Beiser, F. Borek, F. Edel and S. Liebermann:
in: Williams, C.A. and M.W. Chase (eds.): *Methods in Immunology
and Immunochemistry*, Vol.1, Academic Press, New York 1967
20. Faiman, C. and R. Ryan:
Diurnal Cycle in Serum Concentrations of Follicle-stimulating Hor-
mone in Men
Nature (London) 215 (1967) 857
21. Faiman, C. and J.S.D. Winter:
Diurnal Cycles in Plasma FSH, Testosterone and Cortisol in Men
J.Clin.Endocr. 33 (1971) 186
22. Finkelstein, M., E. Fordhielli and R.I. Dorfman:
Estimation of Testosterone in Human Plasma
J.Clin.Endocr. 21 (1961) 98
23. Forchielli, E., G. Sorcini, M.S. Nightingale, N. Brust,
R.I. Dorfman, W.H. Perloff and G. Jacobson:
Testosterone in Human Plasma
Analyt.Biochem. 5 (1963) 416
24. Franchimont, P.:
Gonadotropin Sekretion beim Menschen
Münch.Med.Wschr. 51 (1970) 2303
25. Frasier, S.D., F. Gafford and R. Horton:
Plasma Androgenes in Childhood and Adolescence
J.Clin.Endocr. 29 (1969) 1404

26. Frick, J. and F.A. Kincl:

The Measurement of Plasma Testosterone by Competitive Protein Binding Assay
Steroids 13 (1969) 495

27. Frick, J.:

Darstellung einer Methode ("Competitive Protein Binding") zur Bestimmung des Testosteronspiegels im Plasma und Studie über den Testosteron-metabolismus beim Mann über 60 Jahre
Urol.Intern. 24 (1969) 481

28. Furuyama, S., D.M. Mayes and C.A. Nugent:

A Radioimmunoassay for Plasma Testosterone
Steroids 16 (1970) 415

29. Gandy, H.M. and R.E. Peterson:

Measurement of Testosterone and 17-Ketosteroids in Plasma by the Double Isotope Dilution Derivative Technique
J.Clin.Endocr. 28 (1968) 949

30. Gordon, R.D., J. Spinks, A. Dulmanis, B. Hudson, F. Halberg and F.C. Bartter:

Amplitude and Phase Relation of Several Circadian Rhythmus in Human Plasma and Urine: Demonstration of Rhythm for Tetrahydrocortisol and Tetrahydrocorticosterone
Clin.Sci. 35 (1968) 307

31. Gordon, G.G., A.L. Southren, S. Tochimoto, J.J. Rand and J. Olivo:

Effect of Hyperthyreoidism and Hypothyreoidism on the Metabolism of Testosterone and Androstenedione in Man
J.Clin.Endocr. 29 (1969) 164

- 31a. Guerra-Garcia, R., A. Velasquez and J. Coyotupa:

A Test of Endocrine Gonadal Function in Men: Urinary Testosterone after the Injection of HCG. II. A Different Response of the High Altitude Native
J.Clin.Endocr. 29 (1969) 179

32. Guevara, A., D. Vidt, M.C. Halberg, E.M. Zorn, G. Pohlman and R.G. Wieland:
Serum Gonadotropine and Testosterone Levels in Uremic Meles Undergoing Intermittent Dialysis
Metabolism 18 (1969) 1062

33. Hallberg, M.C., E.M. Zorn and R.G. Wieland:
A Sensitive Testosterone Assay by Protein Binding
Steroids 12 (1968) 241

34. Horton, R.:
Androgen Dynamics in Women with Virilization
in: Tamm, J. (ed.): Testosterone, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1968

35. Ismail, A.A.A., R. Harkness and J.A. Loraine:
Observations on Urinary Testosterone Excretion during the Menstrual Cycle
in: Tamm, J. (ed.): Testosterone, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1968

36. Ismail, A.A.A. and R.A. Harkness:
Urinary Testosterone Excretion in Men in Normal and Pathological Conditions
Acta Endocr. (Kbh.) 56 (1967) 469

37. Ismail, A.A.A., G.D. Niswender and A.R. Midgley:
Radioimmunoassay of Testosterone without Chromatography
J.Clin.Endocr. 34 (1972) 177

38. Ito, T. and R. Horton:
Dihydrotestosterone in Human Peripheral Plasma
J.Clin.Endocr. 31 (1970) 362

39. Kato, T. and R. Horton:
Studies of Testosterone Binding Globulin
J.Clin.Endocr. 28 (1968) 1160

40. Kato, T. and R. Horton:
A Rapid Method for the Estimation of Testosterone in Female Plasma
Steroids 12 (1968) 631

41. Kirschner, M.A., M.B. Lipsett and D.R. Collins:
Plasma Ketosteroids and Testosterone in Man: A Study of the
Pituitary-Testicular Axis
J.Clin.Invest. 44 (1965) 657
42. Kirschner, M.A. and G.D. Coffman:
Measurement of Plasma Testosterone and Δ^4 -Androstenedione
Using Electron-Capture Gas-Liquid Chromatography
J.Clin.Endocr. 28 (1968) 1347
43. Knorr, D.:
Über die Ausscheidung von freiem und glucuronsäuregebundenem
Testosteron im Kindes- und Reifungsalter
Acta Endocr. 54 (1967) 215
44. Kobayashi, T., J. Lobotsky and C.W. Lloyd:
Plasma Testosterone and Urinary 17-Ketosteroids in Japanese and
Occidentals
J.Clin.Endocr. 26 (1966) 610
45. Korenmann, S.G., H. Wilson and M.B. Lipsett:
Testosterone Production Rates in Normal Adults
J.Clin.Invest. 42 (1963) 1753
46. Liebermann, S., B.F. Erlanger, S.M. Beiser and J.F. Agate:
Steroid-Protein Conjugates: Their Chemical Immunochemical and
Endocrinological Properties
Rec.Progr.Horm.Res. 15 (1959) 165, zit. nach Chen et al. (10)
47. Lipsett, M.B., T.E. Davis, H. Wilson and C.J. Canfield:
Testosterone Production in Chromatine-Positive Klinefelter's Syndrome
J.Clin.Endocr. 25 (1965) 1027
48. Littmann, K.P. und H. Gerdes:
Testosterontagesrhythmik und HCG-Stimulation bei akuten und
chronischen Lebererkrankungen
Klin.Wschr. 50 (1972) 1123
49. Maeda, R., M. Okamoto, L.C. Wegienka and P.H. Forsham:
A Clinically Useful Method for Plasma Testosterone Determination
Steroids 13 (1969) 83

50. Maurer, W., U. Volkwein and J. Tamm:

The Effect of Intravenously Administered Human Chorionic Gonadotrophin on Plasma Levels of Testosterone and 5- α -Dihydrotestosterone in Normal Male Subjects
Acta Endocr. 72 (1973) 615

51. Mayes, D. and C.A. Nugent:

Determination of Plasma Testosterone by the Use of Competitive Protein Binding
J.Clin.Endocr. 28 (1968) 1169

52. Mercier, C., A. Alfien and E.E. Beaulieu:

Proc.Sec.Symp. on Steroid Hormones, Ghent 1965
Excerpta Med. Found.Int.Congr.Series 101 (1966) 212

53. Midgley, A.R., G.D. Niswender and J. Sri Ram:

Hapten-Radioimmunoassay: A General Procedure for the Estimation of Steroidal and other Haptenic Substances
Steroids 13 (1969) 731

54. Migeon, C.J., M.A. Rivarola, J.M. Saez and M.G. Forest:

Urinary Excretion of Testosterone Glucuronide and Plasma Concentration of Testosterone and Androstenedione during Pregnancy
in: Tamm, J. (ed.) : Testosterone, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1968

55. Murphy, B.E.P., W. Engelberg and C.J. Pattee:

Simple Method for the Determination of Plasma Corticoids
J.Clin.Endocr. 23 (1963) 293

56. Murphy, B.E.P. and C.J. Pattee:

Determination of Plasma Corticoids by Competitive Protein Binding Analysis Using Gel Filtration
J.Clin.Endocr. 24 (1964) 919

- 56a. Murphy, B.E.P.:

Some Studies of the Protein-Binding of Steroids and their Applications to the Routine Micro and Ultramicro Measurement of Various Steroids in Body Fluids by Competitive Protein Binding Radioassay
J.Clin.Endocr. 27 (1967) 973

57. Murphy, B.E.P.:

Hormone Assay Using Binding Proteins in Blood
in: Odell, W.D. and W.H. Daughaday (eds.): Principles of Competitive Protein-Binding Assays, J.B. Lippincott Comp., 1971

58. Nieschlag, E. und A.A.A. Ismail:

Bestimmung der Tagesschwankungen des Plasmatestosterons normaler Männer durch kompetitive Proteinbindung
Klin.Wschr. 48 (1970) 53

59. Nieschlag, E., M. Rohr, H. Wombacher und C. Overzier:

Leydig-Zell-Funktionstest: Bestimmung von Plasmatestosteron durch kompetitive Proteinbindung vor und nach HCG-Belastung
Klin.Wschr. 49 (1971) 91

60. Nieschlag, E., K.H. Kley, W. Wiegelmann, H.G. Solbach und H.L. Krüskemper:

Lebensalter und endokrine Funktion der Tests des erwachsenen Mannes
Dtsch.Med.Wschr. 98 (1973) 1281

60a. Niswender, G.D., L.E. Reichert jr., A.R. Midgley jr. and A.V. Nalbandov:

Radioimmunoassay for Bovine and Ovine Lutalinizing Hormone
Endocr. 84 (1969) 1166

61. Oertel, G.W. and K.B. Eik-Nes:

Isolation and Identification of Testosterone in Systemic Blood from Normal Human Male Adults
Proc.Soc.Exper.Biol.Med. 102 (1959) 553

62. Oertel, G.W.:

Determination of Plasma Testosterone
Acta Endocr. 37 (1961) 237

63. Oertel, G.W. und E. Kaiser:

Bestimmung von Testosteron im peripheren Plasma junger Männer
Klin.Wschr. 39 (1961) 1146

64. Okamoto, M., C. Setaishi, K. Nakagawa, Y. Horiuchi, K. Moriya and S. Itoh:
Diurnal Variations in the Levels of Plasma and Urinary Androgenes
J.Clin.Endocr. 32 (1971) 846
65. Pearlman, W.H., O. Crepy and M. Murphy:
Testosterone Binding Levels in the Serum of Women During the Normal Menstrual Cycle, Pregnancy and the post-Partum-Period
J.Clin.Endocr. 27 (1967) 1012
66. Rivarola, M.A. and C.J. Migeon:
Steroids 7 (1966) 103
67. Rivarola, M.A., J. Saez, W.J. Meyer, M.E. Jenkins and C.J. Migeon:
Metabolic Clearance Rate and Blood Production Rate of Testosterone and Androst-4-ene-3,17-dione under Basal Conditions, ACTH and HCG-Stimulation. Comparison with Urinary Production Rate of Testosterone
J.Clin.Endocr. 26 (1966) 1208
68. Rivarola, M.A., M.G. Forest and C.J. Migeon:
Testosterone, Androstenedione and Dehydroepiandrosterone in Plasma During Pregnancy and at Delivery: Concentration and Protein Binding
J.Clin.Endocr. 28 (1968) 34
69. Resko, J.A. and K.B. Eik-Nes:
Diurnal Testosterone Levels in Peripheral Plasma of Human Male Subjects
J.Clin.Endocr. 26 (1966) 573
70. Rosenfield, R.L., W. Eberlein and A.M. Bongiovanni:
Measurement of Plasma Testosterone by Means of Competitive Protein Binding Analysis
J.Clin.Endocr. 29 (1969) 854
71. Rosenfield, R.L.:
Plasma Testosterone Binding Globuline and Indexes of the Concentration of Unbound Plasma Androgenes in Normal and Hirsute Subjects
J.Clin.Endocr. 32 (1971) 717

72. Slaunwhite, R. and A.A. Sandberg:
Transcortin: A Corticosteroid-Binding Protein of Plasma
J.Clin.Invest. 38 (1959) 384
73. Southren, A.L., H. Ross, D.C. Sharma, G. Gordon, A.B. Weingold
and R.I. Dorfman:
Plasma Concentration and Biosynthesis of Testosterone in the
Syndrome of Feminizing Testes
J.Clin.Endocr. 25 (1965) 518
74. Tamm, J.:
in: Siegenthaler, W. (ed.): Klinische Pathophysiologie
Thieme Verlag, Stuttgart 1970
75. Tamm, J., M. Apostolakis and K.D. Voigt:
The Effects of ACTH and HCG on the Urinary Excretion of Testosterone
in Male Patients with Various Endocrine Disorders
Acta Endocr. (Kbh) 53 (1966) 61
76. Uetwiller, A.:
Testosteron-Bestimmung im Plasma und Urin mittels "Competitive
Protein Binding Method"
Z.Klin.Chem.u.klin.Biochem. 8 (1970) 225
77. Vermeulen, A. and L. Verdonck:
Studies on the Binding of Testosterone to Human Plasma
Steroids 11 (1968) 609
78. Vermeulen, A.:
Testosterone Excretion, Plasma Testosterone Levels and Testosterone
Production Rates in Health and Disease
in: Tamm, J.: Testosterone, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1968
79. Vermeulen, A. T. Stoica and L. Verdonck:
The Apparent Free Testosterone Concentration, an index of Andro-
genicity
J.Clin.Endocr. 33 (1971) 759

80. Vermeulen, A., R. Rubens and L. Verdonck:
Testosterone Secretion and Metabolism in Male Senescence
J.Clin.Endocr. 34 (1972) 730
81. Westphal, U.:
Steroid-Protein Interactions
Springer Verlag, Berlin/Heidelberg/New York 1971
82. Wiedemann, M., L. Raith, A. Wirtz und H.J. Karl:
Trennung von freien und gebundenen Steroiden mit Amberlite
Z.Anal.Chem. 261 (1972) 382
83. Wilson, J.D.:
Recent Studies on the Mechanism of Action of Testosterone
New Engl.J.Med. 287 (1972) 1248
84. Winter, J.S.D., S. Taraska and C. Faïman:
The Hormonal Response to HCG-Stimulation in Male Children and Adolescents
J.Clin.Endocr. 34 (1972) 348

Ich danke Herrn Priv.Do. Dr. Raith für die Überlassung des Themas,
Frau Dr. Wirtz und Herrn Dr. Wiedemann für ihre Unterstützung bei
der Ausführung der Arbeit.

Lebenslauf

Ich wurde am 27. Januar 1944 als Tochter des Dr.med. Erwin Böhm und seiner Ehefrau, Dr.med. Maria, geborene Schulz, in Pirmasens geboren.

Von 1950 bis 1954 besuchte ich die Volksschule in Saarbrücken, anschließend das Städtische Mädchenrealgymnasium Saarbrücken, das ich 1963 mit dem Abitur abschloß.

Von 1963 bis 1964 studierte ich an der Universität des Saarlandes Germanistik und Anglistik, im Sommersemester 1964 begann ich an der Universität München das Medizinstudium. 1967 bestand ich das Physikum, 1970 das Staatsexamen. Die Medizinalassistentenzeit absolvierte ich an der chirurgischen Abteilung des Klinikums rechts der Isar der Technischen Universität München, weiterhin auf der neurologischen Abteilung des Rudolf-Virchow-Krankenhauses in Berlin und an der I. Medizinischen Klinik der Universität München. Im Juni 1972 erhielt ich die Approbation. Seit April 1973 arbeite ich als Assistenzärztin an der Anästhesie-Abteilung und zentralen Intensivbehandlungseinheit des Städtischen Krankenhauses München-Neuperlach.

